

PRODUCCION DE BROILERS SIN ANTIBIOTICOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO. CONOCIMIENTOS ACTUALES

G. Santomá¹, P. Pérez de Ayala² y A. Gutiérrez del Alamo²

¹Trouw Nutrition International S. A.,² Nutreco Poultry & Rabbit Research Centre;

¹Avda. Carlos III 84 9º 1º, 08028 Barcelona e-mail: g.santoma@nutreco.com

²Ctra. De Yuncos-Valmojado km 58, 45950 Casarrubias del Monte, Toledo
e-mail: p.perezdeayala@nutreco.com - a.gutierrez@nutreco.com

1. Introducción

Desde que en 1969 el **informe** emitido en el Reino Unido por un Comité Científico presidido por el **Profesor Swann** recomendara (aún reconociendo la escasez de datos científicos al respecto) el abandono del uso en piensos de los antibióticos susceptibles de uso terapéutico o análogos a otros empleados en medicina humana, la historia de estos aditivos se ha visto rodeada de la polémica. Después de la prohibición en los años 70 y 80 de aquellos antibióticos promotores del crecimiento (APC) más similares a los utilizados en medicina humana (a excepción de bacitracina, espiramicina y tilosina), el primer APC exclusivamente utilizado en producción animal que se prohibió en la Unión Europea (UE) fue la avoparcina en el año 1997.

La causa fue su pertenencia al grupo, de importancia crítica para medicina humana, de los glicopéptidos, grupo al que también pertenece la vancomicina. Se observó que, en animales alimentados con piensos que contienen avoparcina, se pueden desarrollar enterococos resistentes a los glicopéptidos. Sin embargo, las infecciones por enterococos resistentes a la vancomicina son mucho más frecuentes en los hospitales de EEUU que en los de la UE, aún cuando nunca se ha usado la avoparcina en animales productores de carne en EEUU, lo que sugiere que este problema se debe al propio uso de la vancomicina (Cervantes, 2006).

A partir de 1999, la UE también prohibió el uso de virginiamicina, bacitracina de zinc, fosfato de tilosina y espiramicina como APC, en contra de la opinión del Scientific Committee for Animal Nutrition (SCAN) y **a partir del 1 de enero de 2006 se prohibieron los cuatro APC que restaban**: avilamicina (avicultura y porcino), flavofosfolipol (avicultura, porcino, rumiantes y conejos), salinomicina de sodio (porcino) y monensina de sodio (vacuno de carne). Los argumentos esgrimidos también fueron los riesgos de aparición de cepas de microorganismos resistentes a antibióticos y el llamado “principio de precaución”, respaldados por la presión de los consumidores y las cadenas de distribución (Cepero, 2005), aunque la evidencia posterior no permite concluir que existan estos riesgos.

Un análisis de riesgos realizado recientemente en EE.UU. indica que si la virginiamicina se sigue utilizando como APC en dicho país, el riesgo en humanos sería inferior a una vida “estadística” salvada en un período de 15 años, asumiendo que la resistencia a antibióticos se transmita de alimento a hombre, aspecto éste todavía no demostrado (Cervantes, 2006).

Está claro que existen bacterias resistentes a los antibióticos en los animales, pero su contribución a la existencia de cepas resistentes en el hombre sigue siendo muy controvertida.

Por otro lado, la retirada de los APC de la alimentación animal también supone riesgos para la salud humana: así, se ha demostrado que la administración continuada de flavofosfolipol y salinomicina puede prevenir la colonización del intestino de las aves por *Salmonella enteritidis* y *Clostridium perfringens* (Ducatelle y col, 2001), mientras en los países nórdicos preocupa que puedan aumentar los casos humanos por *C. perfringens*, primera causa de zoonosis en Noruega (Van Immerseel y col, 2003). Existen muchas revisiones al respecto con puntos de vista muy diferentes (Walton, 1988, 1996; Gustafson y Bowen, 1997; Witte, 1998; NRC, 1999; Philips y col, 2004; Turnidge, 2004; Bywater, 2005; Cervantes, 2006).

2. Consecuencias de la retirada de los antibióticos promotores del crecimiento

Sin embargo, los APC ya forman parte de la historia de la UE y las consecuencias de su prohibición empezarán a verse a medida que avance el tiempo, aunque algunos países europeos (Suecia y, Dinamarca) ya tienen cierta experiencia al respecto. Desde el punto de vista de la producción avícola, los APC tenían una serie de ventajas (Walton, 1996): acercan los rendimientos medios al potencial genético de los animales; mejoran el crecimiento en aves jóvenes un 5 – 10%; mejoran el índice de conversión un 2 – 3%, ahorran energía metabolizable, al disminuir los gastos de conservación de la pared intestinal; mejoran el bienestar físico de las aves, siendo estas mejoras consistentes en manadas sucesivas.

Entre otras valoraciones sobre la influencia de los APC sobre los rendimientos productivos, Ross Tech (1998) estimó un incremento medio de la mortalidad del 0.1%; 50 g menos de peso vivo a 42 días, un aumento del índice de conversión (IC) de 40 g/kg y un aumento de la heterogeneidad de las manadas. Resultados de una investigación danesa entre los años 1995 – 1999, no encontraron variaciones en la mortalidad, pero sí un aumento del IC de 16 g/kg (Emborg y col, 2001). La Organización Mundial de la Salud (2003) concluyó que, en el caso de Dinamarca, el IC había aumentado un 2.3% desde la prohibición de los APC en 1999.

Con todo hay que tener en cuenta que en un amplio estudio que involucró un elevado número de trabajos publicados sobre el efectos de los APC en pollos, únicamente en un 72% de los trabajos, los autores reportan mejoras significativas en los rendimientos productivos (Spring, 2000). Ello indica que la eficacia de los APC depende de factores tales como el manejo, la situación sanitaria, la genética, las condiciones de alojamiento y la propia dieta, pero en términos generales, la relación eficacia / coste es positiva.

Como consecuencia del empeoramiento de los resultados productivos, **la retirada de los APC, supone un aumento de los costes medios de producción** que Viaene y de Craene (1993) estimaban en un 1.2% en el caso de los huevos y un 3.4% en el de los pollos, Van der Eijk (2002) indica un estudio de la Swedish University of Agricultural Science de 1997 que estimaba un aumento medio en el coste de producción del pollo de 0.01 €/kg, y en España, las pérdidas se estimaron en unos 51 millones de € en el sector de producción de pollos (Santomá, 1999), sino se tomaban medidas alternativas.

Pero **la prohibición de los APC ha ocasionado**, además, **la aparición de patologías** que se consideraban erradicadas desde hace años, **entre ellas la enteritis necrótica (EN)**. La EN está causada por *C. perfringens* tipos A y C que migran desde ciegos e intestino grueso al intestino delgado, donde producen toxinas que dañan la mucosa intestinal (las toxinas producidas por estos dos tipos de clostridios pueden ocasionar contaminación alimenticia y EN en el hombre, respectivamente (Cervantes, 2006)).

Esta enteritis puede presentarse en forma subclínica, aguda o sobreaguda. La primera, que no siempre se diagnostica y a menudo se interviene tardíamente, ocasiona más pérdidas por la reducción de los rendimientos productivos que por la mortalidad, que oscila entre el 2 – 10% en la forma aguda y puede llegar al 40 – 50% en la forma sobreaguda (Cepero, 2005). Otra forma de presentación de la EN subclínica es la hepatitis o la colangiohepatitis que se encuentra durante el procesamiento en matadero de los pollos, y que puede llegar a representar un 20% de los decomisos en Noruega (Lu y col, 2006).

La incidencia de esta enfermedad varía de un país a otro: es un problema frecuente en el Reino Unido y comienza a serlo en Holanda. En cualquier caso, ha aumentado en los últimos años en la UE (Mateos y Lázaro, 2001; Williams, 2005, McDewitt y col, 2006), llegando a suponer el 12% de las patologías en broilers en Francia (Balloy, 2003). En España, el problema empieza a aparecer ahora (Cepero, 2005). Lovland y Kaldhusdal (2001) estiman que el beneficio de los avicultores disminuye en un 33% entre manadas con elevados niveles de EN frente a aquellas con niveles bajos.

La incidencia de EN depende de muchos factores, entre los más importantes el manejo: malas condiciones ambientales, camas húmedas, bebederos de plafón, altas densidades de cría, el consumo de cama (donde pueden resistir las esporas), desinfecciones mal realizadas y vacíos sanitarios muy cortos son factores predisponentes. Los cambios en la alimentación, sobre todo a raíz de la prohibición del uso de harinas animales, son otro factor de influencia. También influyen otras patologías, como inmunodepresión, salmonelosis, candidiasis del buche y, en especial, la coccidiosis (Cepero, 2005).

Las pérdidas por EN se duplican (Köhler, 2000) cuando se presentan problemas simultáneos de coccidiosis, siendo *Eimeria maxima* y *E. acervulina* las especies más implicadas (Williams, 2005). **Los coccidiostáticos del grupo de los ionóforos han sido hasta ahora el mejor recurso contra EN**, pues *C. perfringens* es sensible a la narasina, salinomicina, monensina, maduramicina y lasalocid de sodio (Pasmans y col, 2004; Martel y col, 2004), lo que hace que estos productos hayan tenido mejor venta en aquellos países donde el uso de APC estuvo prohibido con anterioridad (Cepero, 2005). Estudios recientes de Lu y col (2006) indican que los ionóforos también inducen cambios en la microflora intestinal en el sentido, sorprendentemente, de disminuir la población ileal de *Lactobacilli* y de aumentar la de *Clostridium* en general, particularmente *C. lituseburense* e *irregularis*. No se conocen los posibles efectos beneficiosos de estas especies de *Clostridium*.

En este sentido autores como Martel y col (2004), McDewitt y col (2006) o Recoquillay (2006) indican una mayor predisposición de los pollos a la EN cuando se utilizan vacunas atenuadas como sistema de prevención de la coccidiosis, en lugar del habitual programa de coccidiostáticos. Ello se debería a la eliminación de la protección que ofrecen este tipo de coccidiostáticos.

Todo ello ha condicionado que países como Dinamarca y Noruega hayan **aumentado el uso de antibióticos por vía terapéutica** en un 50 y un 220% respectivamente, después de la prohibición de los APC (McDewitt y col, 2006). Por el contrario, según estos mismos autores, en Suecia el uso total de antibióticos ha disminuido extraordinariamente (en un 55% durante un período de 13 años, con las adecuadas medidas de bioseguridad, manejo, instalaciones, ingredientes del pienso y nutrición), y en Gran Bretaña, el uso de antibióticos terapéuticos para pollos después de la prohibición de los APC no ha aumentado, aunque sí se ha incrementado el uso de coccidiostáticos con actividad frente a *C. perfringens*.

La industria avícola, especialmente la de producción de carne, donde era más generalizado el empleo de APC, se encuentra, por tanto, ante el reto de asumir unos peores rendimientos productivos de los animales, con los consiguientes aumentos de los costes de producción o buscar soluciones alternativas en cuanto a manejo, instalaciones, prevención sanitaria, productos y composición de los piensos que permitan paliar los inconvenientes derivados de la prohibición de los APC. A las dos últimas opciones nos vamos a referir en este trabajo.

3. Influencia de la composición de los piensos

La composición de los piensos de la UE se caracteriza por la utilización de varios cereales (maíz, cebada y trigo, fundamentalmente). Este último se emplea a elevados niveles (hasta 50% o más) en los piensos de broilers y la cebada llega a incorporarse a niveles del orden del 30-40%, gracias al empleo de complejos enzimáticos que permiten disminuir la viscosidad de la digesta que los dos últimos producen, permitiendo una mejor digestión de los nutrientes.

Tanto la cebada como el trigo contienen una mayor cantidad de polisacáridos no amiláceos solubles (PNAs) que el maíz, responsables del aumento de la viscosidad intestinal, que ralentiza el tránsito digestivo y permite a los microorganismos disponer de más sustrato no digerido durante un periodo de tiempo superior para su fermentación, lo que favorece su proliferación (Bedford, 2000). Esto hace que la incidencia de EN tienda a aumentar en primavera – verano, con la llegada de la nueva cosecha, por la mayor cantidad de PNAs (Williams, 2005). El empleo de centeno favorece una mayor proliferación de *C. perfringens* en ciego que trigo o cebada (Francesch y col, 1999).

En este tipo de dietas con **altos niveles de trigo, cebada, y hasta cierto punto centeno, es imperativo, conocido y usual el uso de enzimas** basados en β -glucanasas (cebada) y xilanasas (trigo y centeno), de forma que estos aditivos, que eran ya complementarios a los APC cuando estaban permitidos, con la prohibición, aún son más importantes para favorecer un ambiente intestinal que disminuya la probabilidad de proliferación de agentes patógenos. Dado que son aditivos ya conocidos y sobre los que existe una amplia bibliografía, no van a ser objeto de este trabajo.

En el año 2001 se prohibió el empleo de harinas de carne y huesos en la alimentación animal y, de hecho, también la de harina de pescado para muchos fabricantes, al no poder producir en líneas independientes los piensos de rumiantes y los de otras especies animales. Esta circunstancia provocó que el empleo de la harina de soja se disparara desde inclusiones del orden del 15 – 20% hasta el 30% o incluso más, especialmente en piensos de iniciación. La harina de soja es rica en oligosacáridos, potasio y factores antinutricionales (FAN) cuando no está correctamente procesada, que pueden crear problemas de digestibilidad (aportando más sustrato a los microorganismos) y de heces viscosas y camas húmedas. Otras fuentes de proteína vegetal tienen un empleo limitado en los piensos de broilers, bien por el bajo valor nutricional para esta especie o por su contenido en FAN.

Dicha prohibición también ha estimulado un mayor nivel de inclusión de aceites y grasas para intentar mantener los niveles energéticos de los piensos. Grasas de mala calidad (altas en peróxidos, materia no elucible, o demasiado saturadas en primeras edades) pueden predisponer a problemas entéricos. Por otra parte uno de los efectos de la microflora intestinal patógena consiste en la desconjugación de las sales biliares (e.g. Tannock y col, 1989), de modo que todos aquellos factores que dificultan la digestibilidad y absorción de las grasas (e.g. longitud de la cadena, grado de saturación, ácidos grasos libres, etc.) se verán potenciados.

Knarreborg y col (2002) observaron que pollos alimentados a base de aceite de soja como fuente de grasa, mostraron concentraciones de *C. perfringens* a nivel intestinal inferiores a los pollos alimentados con grasa animal.

Una materia prima controvertida es la **harina de pescado**, puesto que si bien se ha utilizado para provocar EN a nivel experimental, a nivel de campo se ha empleado para aliviarla por su alta digestibilidad (Mateos y col, 2002) y, también a nivel de campo, se sospecha que la mayor incidencia de EN también puede deberse al empleo de piensos exclusivamente vegetales. Una baja digestibilidad de la proteína del pienso permitiría su llegada al intestino grueso donde podría ser degradada por *C. perfringens* (Bedford, 2000). De hecho de Lange (2005) ha encontrado una relación lineal entre la respuesta a los APC y porcentaje de proteína indigestible en dieta. Probablemente el aumento de *C. perfringens* en dietas con harina de pescado se haya debido a una mala calidad de ésta, con presencia de niveles elevados de aminos biogénicas (McDewitt y col, 2006).

En estas circunstancias, de prohibición de los APC, lo mas recomendable es utilizar fuentes de proteína muy digestibles, reducir los niveles de proteína total de la dieta y alcanzar los niveles de aminoácidos deseados mediante la utilización de aminoácidos industriales.

La presencia de otros FAN en el pienso que pueden favorecer el desarrollo de procesos entéricos son las lectinas, micotoxinas, algunos polifenoles, alcaloides, peróxidos, etc., e incluso la propia presencia de contaminación microbiana (e.g. esporas de *C. perfringens*). En este sentido los APC enmascaraban hasta cierto punto, la posibilidad de desarrollo de microflora patógena estimulada por la presencia de estos FAN y microorganismos.

Otro factor relacionado con el pienso es su **presentación física**. La molienda fina del pienso puede causar atrofia y mal funcionamiento de la molleja, así como un peor desarrollo de la mucosa intestinal y la reducción de la secreción de enzimas, por lo que se recomienda un tamaño de partícula superior a 4 mm. Dado que este tamaño es incompatible con un buen granulado, en algunos países (Suecia, Dinamarca, Holanda, Reino Unido) es frecuente incorporar en el pienso hasta un 30 – 40% de trigo entero, recomendándose hacerlo después de la granulación (Ktulu y Karazoak, 1999; Wu y col, 2004) para conseguir el máximo efecto físico. Así se estimula el funcionamiento de la molleja y se ayuda a inhibir la proliferación de *C. perfringens* (Bjernerum y col, 2005), sin reducir su excreción fecal.

4. Los productos alternativos

Una vez conocida la fecha límite de 2006 para los APC, comenzó una importante actividad investigadora para encontrar alternativas a los mismos. Santomá (1999), Cepero (2005) y, muy recientemente, Griggs y Jacob (2005) entre otros, han realizado extensas revisiones al respecto. Así mismo, revistas especializadas como Feed Mix (e.g. 2000, 2002, 2005), World Poultry (e.g. 2005), o Poultry International (e.g. 2006) han dedicado ejemplares y ediciones especiales a este tema, y en todos los Congresos y Symposiums de Avicultura se dedican sesiones específicas a este tema (por ejemplo en los dos últimos Symposiums de Nutrición de la rama europea de la WPSA ha habido entre ambos 3 ponencias principales, 6 comunicaciones y 47 posters).

Hoy en día existe interés pero al mismo tiempo escepticismo en cuanto a la eficiencia de estos aditivos, aunque tal como hemos indicado en el apartado 2, conviene recordar que los propios APC tan sólo muestran resultados positivos en dos tercios de los trabajos publicados en la bibliografía (Ferket, 2005).

Dentro de los grupos de **productos** que **más éxito** han tenido como alternativas a los APC se pueden considerar **los aceites esenciales y extractos de plantas, los ácidos orgánicos, los prebióticos y los probióticos** (ver tabla 1). Desde un punto de vista legal, los aceites esenciales y extractos de plantas, ácidos orgánicos y probióticos están considerados aditivos, por lo que deben cumplir una serie de requisitos para su registro y autorización (Reglamento (CE) 1831/2003 sobre los aditivos en la alimentación animal).

Precisamente por esta razón, estos productos deben tener una composición definida y constante, susceptible de analizar y ser estables a los procesos de fabricación de los piensos cuando se van a emplear por esta vía. Además, no deben reaccionar con otros ingredientes de los piensos que sean sensibles a reacciones químicas (Santomá, 1999). En general, cabe señalar que la mayoría de las alternativas a APC son productos con un modo de acción muy específico, lo contrario que ocurría con los APC, generalmente antibióticos de amplio espectro.

Tabla 1 Resumen de los productos alternativos y de sus posibles mecanismos de acción (Langhout, 2000)

Tipo de Aditivo	Posible Mecanismo de acción
Aceites esenciales y Extractos de plantas	Múltiples, depende de la composición
Ácidos	Inhibición del crecimiento bacteriano
Prebióticos	Estímulo del crecimiento de bacterias deseables en el tracto intestinal
Probióticos	Introducción de bacterias deseables en el tracto intestinal
Inmunoestimulantes	Reducción de las infecciones subclínicas
Enzimas	Eliminación de los efectos antinutricionales de los PNA*

* PNA: Polisacáridos no Amiláceos

En la tabla 2 se resumen las experiencias relativas a las alternativas a los APC publicadas en los últimos años en las principales revistas científicas de avicultura, así como de los dos últimos Symposium de Nutrición de la rama europea de la WPSA. Somos conscientes, y de acuerdo con Gabriel y col (2005), que estas referencias representan tan sólo una pequeña parte del volumen de trabajos realizados por parte de empresas privadas, centros de investigación, universidades y por parte de los propios productores de los aditivos, muchas de las cuales mantienen el status de confidenciales.

Cabe esperar que en un próximo futuro, la cantidad de trabajos que se pueda recopilar permita desarrollar meta-análisis, o holo-análisis (Rosen, 2006), que faciliten realizar estimaciones medias de los efectos zootécnicos de estas alternativas ante distintas situaciones de condicionantes productivos.

En dicha tabla se puede observar que no siempre se encuentran efectos cuando se emplean este tipo de productos y es lógico pensar que se **encuentren respuestas más consistentes cuando se combinan varios productos**, buscando ampliar el campo de acción. En este sentido, como aportación original, a lo largo de este trabajo también expondremos algunas de las experiencias realizadas en el centro de investigación y desarrollo para la avicultura de Nutreco que nos han permitido proponer una alternativa a los APC.

Por otra parte, la mayoría de estos ingredientes sólo se muestran **eficaces** cuando los animales se encuentran **ante algún tipo de desafío**, lo que ocasiona que muchos estudios realizados en

granja experimental, incluso con un elevado número de réplicas, no se repitan en condiciones de campo, debido a que normalmente las condiciones ambientales y de salud de las aves suelen ser óptimas, lo que rara vez ocurre en la realidad. Por ello, algunos investigadores han desarrollado modelos en los que también se sitúa a las aves en condiciones desfavorables para su integridad intestinal, ya sea aportando en su dieta un material altamente viscoso (carboximetil celulosa), que favorece la proliferación microbiana intestinal, o bien infectándolas con agentes patógenos como *Eimeria*, *Clostridium*, *E. coli* o con el síndrome de mala absorción (MAS) a fin de inducir disbiosis microbiana intestinal (Huurne y Smits, 1999; Gutiérrez del Álamo y col, 2005).

Finalmente, la medición de parámetros zootécnicos como única referencia de la eficacia de estos aditivos es, en muchas ocasiones, un parámetro poco sensible. Es por ellos que distintos autores (e.g. de Lange, 2005) han intentado desarrollar técnicas más sensibles basadas en cuantificación de fragmentos de DNA (e.g. Polimorfismo de la Longitud del Fragmento de Restricción Terminal- T-RLFP-), para detectar cambios en la microflora intestinal, relacionados con parámetros productivos, producidos bien por el pienso, bien por aditivos alternativos.

Tabla 2. Influencia de distintos aditivos sobre los rendimientos productivos, procesos digestivos o inmunes y microbiota del intestino de las aves

Referencia	Especie	Aditivo	Desafío	Respuesta
Hernández y col, 2006	Broilers	Acidos orgánicos		+ digestibilidad MS
Mathis y col, 2006	Broilers	AGCC/M	<i>Eimeria</i> y <i>Clostridium</i>	+crecimiento, IC -índice de lesiones
Teo y Tan, 2006	Broilers	Probióticos	<i>Escherichia coli</i>	+ IC, crecimiento - mortalidad
Angel y col, 2005	Broilers	Probióticos	Pienso baja densidad	+ peso vivo
Bampidis y col, 2005	Pavos	Extractos de plantas		+ IC
Cutler y col, 2005	Pavos	Probióticos		Cambios ácidos carboxílicos del buche
Gil de los Santos y col, 2005	Broilers	Probióticos	<i>Salmonella enteritidis</i>	+ peso vivo, IC
Rutkowski y col, 2005	Broilers	Probióticos	En jaulas	+ IC
Körosi y col, 2005a	Broilers	Probióticos		+ crecimiento, IC
Lund y col, 2005	Broilers	Probióticos	4 centros de la UE	+ crecimiento, IC
Jamroz y col, 2005	Broilers	Extractos de plantas		+ PV, % pechuga, lipasa, lactobacilos - <i>Escherichia coli</i> , <i>Clostridium perfringens</i>
Leeson y col, 2005	Broilers	AGCC/M		- consumo
Leeson y col, 2005	Broilers	AGCC/M	Coccidiosis	+ crecimiento
Leeson y col, 2005	Broilers	AGCC/M		+ crecimiento, % pechuga
Antongiovanni y col, 2005	Broilers	AGCC/M	<i>Cl. perfringens</i>	+ crecimiento, IC
Oviedo-Rondón y col, 2005	Broilers	Extractos de plantas	Vacunación y no vacunación frente a coccidiosis	Sin diferencias
Çabuk y col, 2005	Broilers	Extractos plantas		-consumo, mortalidad +IC

Referencia	Especie	Aditivo	Desafío	Respuesta
Halle y col, 2005	Broilers	Extractos plantas		Prueba 1: -consumo, mortalidad +IC Prueba 2: +consumo, crecimiento
Torres-Rodríguez y col, 2005	Broilers	Prebióticos	Proteína baja	+ peso vivo
Rutkowski y col, 2005	Broilers	Prebióticos	En jaulas	+ crecimiento, IC -pH en buche y molleja
Rutkowski y col, 2005	Broilers	Prebióticos + AGCC	En jaulas	+ crecimiento, IC -pH en buche y molleja
Bozkurt y col, 2005	Broilers	AGCC		+ crecimiento
Bozkurt y col, 2005	Broilers	Prebióticos		+ crecimiento
Bozkurt y col, 2005	Broilers	Probióticos		+ crecimiento
Bozkurt y col, 2005	Broilers	Prebióticos + Probióticos		+ crecimiento, IC
Vasudevan y col, 2005	<i>In vitro</i>	AGCM		+ contra <i>Salmonella enteritidis</i>
Zaghini y col, 2005	Ponedoras	Prebióticos		- Peso huevo
Zdunczyk y col, 2005	Pavos	Prebióticos		+ crecimiento - NH ₄ , AGV y <i>Escherichia coli</i> cecal
Chaveerach y col, 2004	Broilers	Acidos orgánicos	<i>Campylobacter</i>	
Guo y col, 2004a	Broilers	Extractos de plantas	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	+ crecimiento, bifidobacterias y lactobacilos
Guo y col, 2004b	Broilers	Extractos de plantas		+ peso vivo, consumo - IC
Guo y col, 2004c	Broilers	Extractos de plantas		+ crecimiento
Hernández y col, 2004	Broilers	Extractos de plantas		+ digestibilidad MS, EE
Hooge y col, 2004	Broilers	Probióticos		+ crecimiento, IC
Huang y col, 2004	Broilers	Probióticos		+ crecimiento, IC
Koenen y col, 2004	Broilers	Probióticos		+ estimulación inmunidad
Mitsch y col, 2004	Broilers	Extractos de plantas		- proliferación <i>Clostridium perfringens</i>
Sims y col, 2004	Pavos	Prebióticos		+ crecimiento, IC - proliferación <i>Clostridium perfringens</i>
Van Immersel y col, 2004a	Broilers	AGCC	<i>Salmonella</i>	- colonización en ciego
Hofacre y col, 2003	Broilers	Prebióticos	<i>Clostridium perfringens</i>	- mortalidad
Hooge y col, 2003	Broilers	Prebióticos		+ crecimiento, IC
Kenyon y col, 2003	Broilers	Prebióticos	Condiciones ciales.	+ crecimiento vs Avilamicina
Xu y col, 2003	Broilers	Prebióticos		+ crecimiento, IC, bifidobacterias y lactobacilos, inhibición <i>Escherichia coli</i>
Tucker y col, 2003	Broilers	Prebióticos		+ crecimiento, IC

Referencia	Especie	Aditivo	Desafío	Respuesta
Morales y col, 2003	Broilers	Prebióticos	En jaulas y alta higiene	+ crecimiento en dietas altas en PAN + IC en dietas bajas en PAN
Morales y col, 2003	Broilers	Probióticos	En jaulas y alta higiene	+ crecimiento en dietas altas en PAN + IC en dietas bajas en PAN
Kalavathy y col, 2003	Broilers	Probióticos		+ peso vivo, IC - grasa abdominal, colesterol y LDL
Deschepper y col, 2003	Broilers	AGCM		+ crecimiento, longitud villi
Lee y col, 2003a	Broilers	Extractos de plantas		+ IC - consumo, crecimiento, triglicéridos en plasma
Lee y col, 2003b	Broilers	Extractos de plantas		
Moser y col, 2003	Broilers	Extractos de plantas	En jaulas y alta higiene	Sin diferencias
Moser y col, 2003b	Broilers	Extractos de plantas	Condiciones ciales.	+ IC, crecimiento, calidad yacaja
Lewis y col, 2003	Boilers	Extractos de plantas		Sin diferencias
Hooge y col 2003b	Broilers	Extractos de plantas	<i>C. perfringens</i>	+ crecimiento, IC - índice de lesiones
Kristiansen y Engstad, 2003	Broilers	Beta-1,3/1,6-glucanos		+ crecimiento, IC
Chambers y col, 2002	Broilers	Probióticos	<i>Salmonella</i>	- colonización cecal
Chaveerach y Lu, 2002	<i>In vitro</i>	Acidos orgánicos		+ contra <i>Campylobacter spp.</i>
Bruggeman y col, 2002	Broilers	AGCM		+ crecimiento, IC, calidad yacaja
Balevi y col, 2001	Ponedoras	Probióticos		+ IC - consumo, huevos rotos
Dickens e Ingram, 2001	Broilers	Extractos de plantas		- coliformes, <i>Campylobacter</i> y <i>Escherichia coli</i> en canales
Estrada y col, 2001	Broilers	Probióticos		- celulitis en canales
Fairchild y col, 2001	Broilers	Prebióticos	<i>Escherichia coli</i>	+ crecimiento
Kubena y col, 2001	Broilers	Taninos	<i>S. typhimurium</i>	
Santin y col, 2001	Broilers	Prebióticos		+ crecimiento, IC, altura villa

+: respuesta positiva o aumento; -: respuesta negativa o disminución; MS: materia seca; IC: índice de conversión; AGCC/M: ácidos grasos de cadena corta/media; AGV: ácidos grasos volátiles; EE: extracto etéreo.

4.1. Aceites esenciales y extractos de plantas. (Fitobióticos)

Probablemente son los productos más antiguos utilizados en medicina humana, pero su uso en animales es relativamente nuevo (Kamel, 2000). Los extractos y aceites esenciales de plantas **son metabolitos secundarios** que, generalmente, ejercen una función de defensa de las plantas frente a agresiones externas: estas sustancias protegen a las plantas de organismos patógenos y herbívoros, y le sirven de defensa frente a otras plantas y otros procesos abióticos que causan estrés, como son la desecación y la radiación ultravioleta (Briskin, 2000); por otra parte, también sirven para atraer a organismos beneficiosos como los polinizadores.

Las plantas y sus extractos constituyen una **alternativa atractiva** a los antibióticos promotores del crecimiento, ya que encajan perfectamente en el planteamiento actual de la agricultura y la alimentación en la UE, así como con la opinión del consumidor, para el cual “los **productos naturales** son buenos”. El mercado para estos aditivos vegetales se ha expandido rápidamente desde los años 90. Un buen ejemplo del crecimiento de este mercado es la evolución sufrida por los productos basados en aceites esenciales en la UE: en 1996 se comercializaron 90 toneladas de estos productos, con unos ingresos de 16 millones de €; desde entonces, este mercado ha experimentado un rápido crecimiento y las predicciones para el año 2006 son de 601 toneladas de productos (Kamel, 2006).

En la última revisión publicada del Registro Comunitario de Aditivos al Pienso de 29 de Mayo de 2006, fruto del Reglamento 1831/2003 (Comisión Europea, 2006), aparecen más de 2700 notificaciones de aditivos, de las cuales 1378 corresponden a “aromatizantes naturales y los productos sintéticos correspondientes” y 629 corresponden a los aditivos denominados “productos naturales botánicamente definidos”. Por tanto nos encontramos que el 75% de los aditivos notificados a la UE se encuentran bajo el epígrafe de “aditivos sensoriales” en el subgrupo de compuestos aromatizantes, y no bajo el epígrafe de “aditivos zootécnicos” que son aquellos que se notifican como mejoradores de las producciones.

4.1.1. Composición Química y Mecanismo de Acción

La composición química de los extractos de plantas es **muy variada**. Incluye una gran variedad de sustancias, como terpenos, fenoles, ácidos orgánicos, alcoholes, aldehídos y cetonas, que confieren propiedades aromáticas a las plantas que los contienen. Entre ellas pueden citarse: nuez moscada (cuyo extracto principal es la sabinina), canela (cinamaldehído), clavo (eugenol), orégano (carvacrol), cardamomo, romero, salvia, eucalipto y laurel (cineol), cilantro (linalol), comino (cuminaldehído), anís (anetol), apio (ftálidos), perejil (apiol), alholva (trigonellina), cayena (capsaicina), pimienta (piperina), pimiento rojo (capsaicina), rábano picante y mostaza (alil isotiocianato), jengibre (zingiberona), ajo (alil polisulfuro), tomillo (timol) o menta (mentol). También se incluyen otros metabolitos secundarios de las plantas como saponinas, flavonoides, taninos, etc.

Se conocen algunos de los efectos de los extractos de plantas sobre los microorganismos y el ganado, pero todavía queda mucho por conocer sobre sus modos de acción. Entre los principales efectos descritos, Kamel (2006) señala **efectos bactericidas y bacteriostáticos** (capsaicina, carvacrol, cinamaldehído, eugenol, alicina, cineol, curcumina) que pueden llegar a ser “selectivos” y Giannenas y col (2004) señalan incluso efectos coccidiostáticos (carvacrol).

Como modificadores digestivos, Kamel (2006) señala efectos sobre la ingestión de alimento (fenogreco o alholva); sobre la digestión de los nutrientes, **estimulando la actividad de enzimas** pancreáticas e intestinales (capsaicina, piperina, zingerona, curcumina); sobre la absorción de los nutrientes, optimizando la actividad de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa y la catalasa y mejorando la salud de las microvellosidades intestinales (cinamaldehído).

También pueden actuar como **reguladores de la microflora intestinal**: así, la artemisinina, un componente del aceite esencial extraído del ajeno silvestre posee actividad antipalúdica (Klayman, 1985), inhibe el desarrollo de *Cryptosporidium parvum* en el ratón (Youn y Noh, 2001) y es efectiva contra algunas especies de coccidios en las aves (Allen y col, 1997). Los extractos de plantas también pueden **modificar el sistema inmune**, mejorando la eficacia de los granulocitos, los macrófagos y las “células asesinas naturales”, lo que puede ser interesante para situaciones de estrés entérico, como ocurre en el caso de los coccidios. Otras actividades fisiológicas comprenden funciones anti-inflamatorias, antioxidantes, diuréticas, endocrinológicas, etc.

El **problema** a la hora de usar estos productos es que hay multitud de componentes diferentes y que varían de forma imprevisible en una misma planta, en función de numerosos factores (variedad, zona geográfica, condiciones climáticas, época de recolección, procesado, etc.), por lo que no siempre se obtienen resultados consistentes cuando se repiten experimentos utilizando **extractos naturales**, lo que ha llevado a que también se utilicen combinaciones aceites esenciales de síntesis. En este sentido en la tabla 3 se puede observar la **variabilidad en composición** de algunas sustancias activas de 5 muestras de tomillo.

Tabla 3 Análisis de aceites esenciales de 5 muestras de tomillo y comparación con el standard de la Farmacopea Europea (FE) (Recoquillay, 2006)

	FE	1	2	3	4	5
Beta-mirceno	1-3	0.3	0.4	0.7	0.36	1.5
Sigma-terpineno	5-10	24.7	28.9	2.2	26.7	9.8
Para-cimeno	15-28	18.8	23.7	5.3	23.3	19.4
Linalol	4-6.5	trazas	trazas	4.8	-	2.5
Terpineno-4-ol + beta cariofileno	0.2-2.5	trazas	0.2	8.0	0.16	1.5
Timol	36-55	52.9	40.6	7.5	45.6	52.4
Carvacrol	1-4	trazas	0.7	1.5	0.5	2.8
Alfa-pineno	0.6-2.1			7		
Canfeno				11.8		
Borneol				27.5		

Además, esta variabilidad, unida a la menor capacidad inhibitoria de los extractos comparada con los APC, **obliga a incluir dosis bastante elevadas**, entre 10 y 100 veces la dosis normal de un APC (Cepero, 2005), que en muchas ocasiones no resultan rentables. Los extractos de plantas pueden tener efectos sinérgicos cuando se mezclan entre sí y también se pueden combinar con otros aditivos, en especial con ácidos orgánicos, pues sus mecanismos de acción se complementan (Ricke y col, 2005).

Por otra parte muchos aceites esenciales son volátiles, irritantes (e.g. capsaicina, piperina, zingerol), corrosivos y pueden reaccionar con otros ingredientes o aditivos del pienso que lo pueden hacer poco apetecible y fácilmente enranciable (Mellor, 2005). En este sentido se hace necesario recubrir (microencapsular) estos aditivos con objeto de facilitar y hacer más seguro su manejo, así como para proteger a los componentes activos de los procesos tecnológicos (presión, temperatura) y prevenir la interacción con otros componentes del pienso.

4.1.2. Control de la microflora intestinal

Tal como se ha indicado en el apartado 2, uno de los problemas más repetidos al retirar los APC, especialmente con dietas de origen exclusivamente vegetal, es la aparición de disbacteriosis intestinal, y aún problemas claros de enteritis necrótica. Por tanto, se debe buscar en los productos alternativos a los APC un control de la flora bacteriana intestinal, papel que pueden desempeñar los extractos de plantas.

Este efecto parece probado en diversas sustancias (Dorman y Deans, 2000; Mitsch y col, 2004; Guo y col, 2004a), como el timol, el carvacrol, el eugenol, el cinamaldehído, la curcumina, la alicina y la piperina. En varios ensayos el uso de algunas de estas sustancias mezcladas o por separado ha permitido reducir la colonización intestinal por *C. perfringens* (Losa y Köhler, 2001; Williams y col, 2003; Mitsch y col, 2004), *Salmonella* (Aktug y Karapinar, 1986; Kim y col. 1995; Ross y col, 2001), *E. coli* (Faray y col, 1989; Hammer y col., 1999; Friedman y col., 2002) y estimular la secreción de algunos enzimas digestivos (Williams y Losa, 2001; Lee y col, 2003c). Parece que la eficacia de estos compuestos es mayor en las primeras semanas de vida del pollo (Guo y col, 2004b, c) y, también cuando las condiciones sanitarias no son óptimas (Gutiérrez del Alamo y col, 2005).

Gou y col (2004a) testaron extractos de plantas en pollos infectados con *Mycoplasma gallisepticum*, observando una estimulación de bífidobacterias y lactobacilos en ciego, en detrimento de *Bacteroides* spp. y *E. coli*. La eficacia contra *C. perfringens* ha sido reflejada por Mitsch y col (2004) y por Zrustova y col (2005) en broilers. Estos últimos autores detectaron una CIM de los aceites esenciales (los mono-terpenos: neral y geranial) de mirtilo de limón (*Backhousia citrifolia*) del 0.05% frente a dos cepas de *C. perfringens* tipo A y Dickens e Ingram (2001) indican una menor incidencia de coliformes, *Campylobacter* y *E. coli* en canales.

De un total de 14 productos comercializados como “naturales” a base de extractos de plantas, Zrustova y col (2005) detectaron que tan sólo 3 de ellos prevenían el crecimiento de *C. perfringens in vitro* mediante la técnica de producción de gas. Los productos que se mostraron más eficaces fueron aquellos que contenían saponinas y flavonoides.

4.1.3. Resultados productivos

Jamroz y col (2005) suplementaron con 100 mg/kg de una mezcla de capsaicina, cinamaldehído y carvacrol a pollos alimentados con raciones basadas en maíz o cebada y trigo. Observaron una mejora en el IC del 4.2 y 2% en el caso del maíz y de la cebada y trigo, respectivamente, respecto al control negativo; del 1.2% en el porcentaje de pechuga así como

una disminución en el número de *E. coli*, *C. perfringens* y un aumento de *Lactobacillus* spp. a 41 días de edad. También indican un aumento de la actividad lipasa en páncreas y pared intestinal.

Por su parte, Hernández y col (2004) experimentaron en broilers con dos mezclas de extractos de plantas (orégano, canela y pimienta, y salvia, tomillo y romero); la segunda mezcla mejoró el crecimiento de 14 a 21 días y la digestibilidad fecal de la materia seca (MS) y ambas mezclas la digestibilidad fecal del extracto etéreo (EE); a nivel ileal, ambas mezclas mejoraron las digestibilidades de MS y almidón, con resultados comparables a los del control positivo (avilamicina).

Actualmente, la mayoría de los extractos de plantas y sus mezclas se registran como aromatizantes o sustancias estimulantes del apetito, pero con la nueva legislación de aditivos y dado que se van conociendo mejor sus modos de acción, esto podría cambiar en los próximos años.

4.2. Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza como constituyentes habituales de los tejidos vegetales o animales. También se producen a partir de la fermentación microbiana de los hidratos de carbono, principalmente en el intestino grueso. Su **empleo** está **generalizado como agentes conservantes** y también en ganado porcino como acidificantes gástricos, fundamentalmente lechones, y su interés en avicultura ha comenzado a raíz de la prohibición de los APC y como medio de prevención de *Salmonella*.

4.2.1. Mecanismo de acción

Más que como acidificantes, los ácidos orgánicos son conocidos por sus efectos conservantes (y así están clasificados como aditivos por la UE). Su primer efecto antimicrobiano (inhibición o retraso del crecimiento microbiano de forma selectiva) se debe a la disminución del pH del pienso y del agua de bebida (actividad *in vitro*). Su modo de acción *in vivo* se basa en el mismo mecanismo: acidificación del buche.

Sin embargo, es más interesante la capacidad de los ácidos orgánicos de pasar de la forma disociada a la no disociada, dependiendo del pH del medio, convirtiéndose en **agentes antimicrobianos** muy eficaces. Cuando un ácido orgánico se encuentra en su forma no disociada puede atravesar la membrana semipermeable de las bacterias. Una vez dentro, se disocia ejerciendo una doble acción: por un lado, los protones disminuyen el pH intracelular, produciendo una acumulación de aniones, circunstancia que provoca el agotamiento de la célula para reestablecer el equilibrio iónico (Van der Wielen y col, 2000); por otro lado, el anión del ácido disminuye la síntesis de ARN, ADN, proteína y pared celular. Estos efectos provocan una inhibición del crecimiento en algunos tipos de bacterias (Cherrington y col, 1990).

Otro modo de acción se debería a su **elevada digestibilidad y a su aporte de energía**. Debido a su longitud de cadena, se digieren de manera más fácil (razón por la que se emplean en alimentación clínica humana); en casos de trastornos digestivos, donde la digestión de la grasa empeora, podrían ejercer un efecto positivo (Den Hartog y col, 2005). Otros mecanismos de acción más específicos se tratarán en los sub-apartados siguientes.

En la lista de aditivos publicada por la Comisión Europea en mayo de 2006 figuran notificados 47 ácidos, sales y combinaciones de ácidos y sales como “conservantes” y 33 como reguladores de la acidez, dentro del epígrafe de “aditivos tecnológicos”. Únicamente hay 3 sales de ácidos notificadas como “aditivos zootécnicos”.

4.2.2. Tipos de ácidos orgánicos y resultados productivos

4.2.2.1. Ácidos Grasos de Cadena Corta (AGCC)

Los AGCC como **acético, propiónico, láctico y butírico**, son productos finales del metabolismo de la propia flora anaeróbica intestinal y su producción puede incrementarse añadiendo prebióticos y probióticos al pienso (Van Immerseel y col, 2002). Estos ácidos tienen efectos antibacterianos a nivel de buche y de molleja. Administrados directamente en colon, mejoran la estructura del yeyuno, y en el caso del butírico, estimula la proliferación celular y la síntesis de proteína tanto de colágeno como no-colágeno en el mucosa (Lan y col, 2005), y regula los niveles de las citoquinas IL-8 y IL-6 en el intestino durante la inflamación de modo que también interviene en la respuesta inmunitaria (Ziegler y col, 2003).

Para que sean eficaces por vía oral a nivel del último tramo del tracto intestinal deben administrarse protegidos, para evitar su desaparición en los primeros tramos del intestino y obtener una liberación gradual (e.g. van Immerseel y col 2003), y en el caso del ácido butírico, por su olor penetrante y desagradable, también es necesario protegerlo mediante recubrimiento o suministrarlo en forma de glicérido.

4.2.2.1.1. Control de patógenos

Las mezclas de ácidos fórmico y propiónico se han mostrado eficaces contra *Salmonella* (Thompson y Hinton, 1997) y contra *Campylobacter* (Chaveerach y col, 2004). También Hinton y Linton (1988) estudiaron los efectos de añadir mezclas de ácidos fórmico y propiónico a piensos de pollos infectados con *Salmonella*, concluyendo que la adición de ácidos reducía la colonización cecal por *Salmonella*, aunque a dosis de 0.68% de ácido acético y 1.2% de propiónico. Además Thompson y Hinton (1997) observaron una disminución de la cantidad de ácido láctico en el buche. Estos autores indican que estos ácidos a estas dosis pueden eliminar parte de la flora láctica habitual en el buche.

Van Immerseel y col (2004a) alimentaron pollos con piensos que contenían ácidos fórmico (0.22%), acético (0.24%), propiónico (0.27%) o butírico (0.15%) micro-encapsulados y los infectaron con *S. enteritidis*. Los piensos suplementados con acético y fórmico resultaron en una mayor colonización del ciego y otros órganos internos, el ácido propiónico dio unos valores similares a los del control negativo, mientras que **el ácido butírico redujo de forma significativa la colonización fecal**.

En el caso del ácido butírico, además de ser la principal fuente de energía de los enterocitos es esencial para la salud de la mucosa intestinal (Isolauri y col, 2003), y también se ha mostrado eficaz en el control de *Salmonella* (van Immerseel y col, 2003; 2004a). Estos últimos autores han comprobado mediante la administración de AGCC protegidos, que el ácido butírico, y en menor medida el propiónico, tienen una acción inhibitoria en la expresión de los genes virulentos de *Salmonella* en los tramos distales del intestino, mientras que el ácido acético ha

estimulado esta expresión. Por tanto es **importante tener en cuenta los ácidos y combinaciones utilizadas**.

En general, **la eficacia de estos ácidos es mayor en bacterias Gram negativas**, dada la mayor permeabilidad de su membrana (Santomá, 1999). Con todo, Van Immerseel y col (2002) señalan que el uso de ácidos en avicultura debe realizarse con precaución, pues *Salmonella* puede desarrollar tolerancia a los ácidos orgánicos si está expuesta a los mismos durante un tiempo suficiente.

Dos experimentos realizados por Chaveerach y col (2002, 2004) concluyen que el empleo de ácidos orgánicos en el agua de bebida puede ser una medida eficaz para controlar la transmisión de *Campylobacter* spp.

4.2.2.1.2. Resultados productivos

En una serie de experimentos, Leeson y col (2005) observaron una disminución del consumo en pollos cuando se empleaban AGCC a dosis de 0.4%, pero no a dosis más bajas (0.2%); la ganancia de peso no se vio afectada. En el segundo experimento compararon dos dosis de ácido butírico (0.1 y 0.2%) frente a controles positivo (bacitracina) y negativo: los rendimientos productivos no se vieron afectados, pero el peso de la canal y el rendimiento en pechuga aumentaron con la incorporación de 0.2% de ácido butírico. En el último experimento, con pollos infectados con coccidiosis, el tratamiento con ácido butírico reflejó los mejores crecimientos. Antongiovanni y col (2005) ratificaron estos últimos resultados, también con una inclusión del 0.2% de triglicéridos de butírico.

Gutiérrez del Alamo y col (2005) señalan unas mejoras en los rendimientos productivos medios de los pollos del orden del 1.7% para la velocidad de crecimiento e IC (rango -2.4 hasta 7%), cuando se comparan con un control negativo.

Hernández y col (2006) compararon dos dosis de ácido fórmico (0.5 y 1%) con avilamicina y un control negativo en piensos de pollos. No observaron diferencias en los resultados zootécnicos entre ninguno de los tratamientos y concluyen que, con buenas condiciones de manejo e higiene, el uso de estos aditivos no parece necesario; sin embargo, sí observaron mejoras en el coeficiente de digestibilidad de la materia seca.

Otros AGCC utilizados son los ácidos láctico, fumárico, málico, cítrico, sórbico y benzoico (van Hees y van Gils, 2002). También se pueden utilizar las sales y glicéridos de algunos de los ácidos, más volátiles, irritantes y corrosivos, o bien productos recubiertos, para facilitar su manejo, seguridad, persistencia y resistencia a los procesos tecnológicos. Una vez en solución en el tracto digestivo, las sales se solubilizan y pasan a la forma ácida o disociada en función de su pKa.

4.2.2.2. Ácidos Grasos de Cadena Media (AGCM)

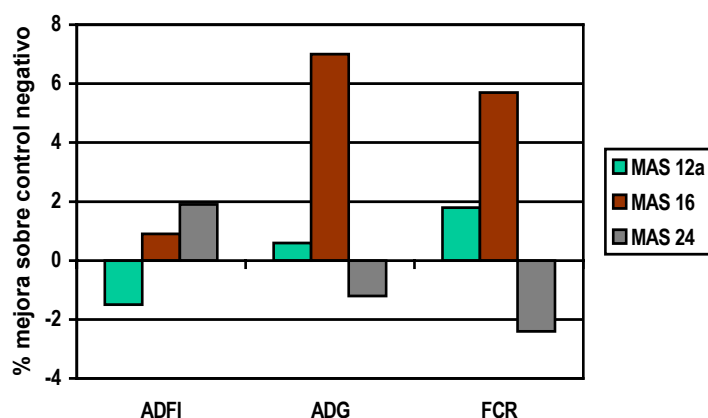
Otro tipo de ácidos orgánicos que se están utilizando en la actualidad son los AGCM. En primer lugar, resultados *in vitro*, han demostrado que los AGCM (caproico, caprílico y cáprico) son efectivos en la inhibición de ciertas bacterias patógenas, como *E. coli*, y *C. perfringens* (e.g. van Hees y van Gils, 2002; Dierick y col, 2002, Bruggeman y col, 2002) por lo que podrían ejercer un efecto positivo sobre la población microbiana.

Además de los mecanismos de acción descritos para los ácidos orgánicos en general, **a los AGCM se les atribuye también la capacidad de interaccionar con la membrana celular, por sus mayores propiedades lipofílicas** que los AGCC, y así aumentar la polaridad de esta región de la membrana celular que permite el reflujo de protones al interior de la célula (mecanismo denominado “efecto desacoplador”). Este aumento de la polaridad dificulta la absorción de nutrientes y contribuye a alterar el metabolismo y a la ruptura celular (van Hees y van Gils, 2002).

Estos resultados *in vitro* fueron luego comprobados *in vivo* en cuanto a resultados productivos, por Bruggeman y col (2002), Deschepper y col (2003) con la inclusión de un 0.2% de una combinación de AGCM (estos últimos autores también observaron una mayor longitud de los villi intestinales en relación al control negativo) y por Den Hartog y col. (2005) en varios experimentos con diferentes dosis de incorporación de AGCM (0.5, 1.0 y 1.5 g/kg) a piensos de broilers (figura 1). Van Immerseel y col (2004b) también observaron una reducción de la colonización por *Salmonella enteritidis* en el ciego y otros órganos internos del pollo cuando se alimentaban con pienso conteniendo 0.3% de ácido caproico.

Por su parte Antongiovanni y col (2005) observaron efectos similares a la avilamicina en cuanto a mejora del crecimiento y del índice de conversión, después de una infección con *Eimeria* y con *C. perfringens* a los 21 días, mediante la utilización de triglicéridos de caprílico y cáprico al 0.15% del pienso y con un 0.2% de triglicéridos de butírico. La suplementación con estos ácidos se pudo interrumpir 2 semanas antes del sacrificio sin afectar a los resultados positivos finales.

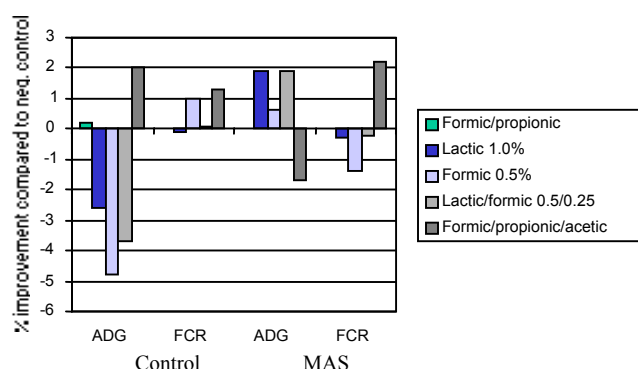
Figura 1. Influencia de los AGCM en los resultados de pollos con síndrome de mala absorción (Den Hartog y col, 2005). ADFI: consumo medio diario; ADG: ganancia media diaria y FCR: IC



También Vasudevan y col (2005) encontraron un efecto positivo del ácido caprílico contra *S. enteritidis* en el contenido cecal (tratado en autoclave) de broilers.

Al igual que se ha indicado para el caso de los AGCC y en general para todos estos aditivos alternativos a los APC, Den Hartog y col (2005) señalan que el efecto de los ácidos orgánicos puede ser variable dependiendo de las condiciones de crianza (figura 2). Los animales en condiciones control y suplementados con ácidos mejoraron el IC, mientras que los cebados en condiciones de síndrome de mala absorción (MAS) tendieron a mejorar su velocidad de crecimiento cuando se suministraban los ácidos.

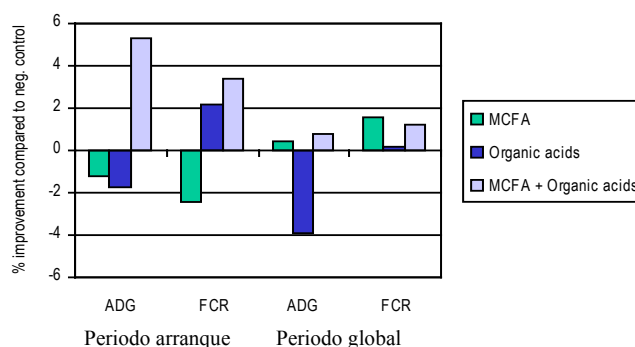
Figura 2. Efecto de la suplementación con ácidos orgánicos a pollos de 0-21 días, expuestos o no al síndrome de mala absorción (MAS), sobre sus resultados zootécnicos (Den Hartog y col, 2005). ADG: ganancia media diaria, FCR: IC



4.2.2.3. Combinaciones de AGCC/AGCM

Den Hartog y col (2005) también señalan que cabe esperar **efectos sinérgicos o aditivos cuando se combinan AGCC/M**: los AGCM podrían actuar sobre la integridad de la membrana celular, facilitando la entrada de los AGCC al interior de la misma, donde ejercerían su actividad antimicrobiana. Así, los broilers sometidos a condiciones MAS, tuvieron una velocidad de crecimiento e IC mejores cuando fueron suplementados con una combinación de AGCC y AGCM (figura 3).

Figura 3. Efecto de los ácidos orgánicos, ácidos grasos de cadena media o la combinación de ambos sobre los resultados zootécnicos de pollos en condiciones MAS de 0-20 (arranque) y 0-40 (global) días (Den Hartog y col, 2005). ADG: ganancia media diaria, FCR: IC



A conclusiones similares han llegado Mathis y col (2006) con la utilización de una combinación de ácidos orgánicos (fórmico, acético, propiónico y sórbico) con AGCM (caprílico y cáprico) en pollos infectados con *Eimeria* y *C. perfringens* a los 14 días. Efectivamente con la utilización de un 0.2% de esta combinación se consiguió recuperar un 45% del aumento de peso perdido por la infección entre los 14 y 28 días, disminuyendo el índice de lesiones producido por la doble infección. Según estos autores los ácidos en general no son efectivos frente a *Eimeria*, pero a diferencia de los AGCC, los AGCM parecen ser más efectivos frente a bacterias Gram +, de

modo que una combinación de ambos tipos de ácidos puede tener un efecto aditivo o sinérgico en el control de la microflora intestinal.

4.3. Prebióticos

Los prebióticos son **ingredientes no digestibles** que, en unos casos estimulan selectivamente el crecimiento o actividad de una o varias especies bacterianas de la microbiota intestinal comensal, que a su vez provocan una mejora de la salud del animal, y en otros se piensa que actúan como receptores de anclaje de bacterias patógenas.

Existen cientos de compuestos con interés potencial (Choct, 2000); la mayoría son hidratos de carbono, y entre ellos los más usados en avicultura son los oligosacáridos, carbohidratos de 3-10 unidades de azúcares monoméricos. Se distinguen según sus monómeros, el tipo de unión entre ellos, la estructura de la cadena, y por sus uniones a otras estructuras no hidrocarbonadas. La mayoría presentan un enlace glicosídico β entre sus unidades de azúcares, que no es degradado por los enzimas digestivos, pero sí por la microbiota intestinal. El número de posibilidades de tipos de moléculas es tan elevado que hay autores como Newman (2005) que lo han relacionado con las matemáticas y han denominado a la ciencia que da lugar "Glicómica". Los más estudiados, y empleados en la práctica, son **los fructo-oligosacáridos (FOS) y los manano-oligosacáridos (MOS)**.

Los oligosacáridos utilizados como prebióticos pueden ser de origen natural, pero en su mayoría se obtienen por síntesis o hidrólisis enzimática. Los FOS se obtienen industrialmente a partir de la sacarosa o por hidrólisis de fructanos de mayor tamaño como la inulina; los MOS principalmente a partir de la pared celular de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*), aunque también los hay de otros orígenes (garrofa, sintéticos, etc.). Existen productos comerciales que contienen diferentes formas de oligosacáridos (Iji y Tivey, 1998, 1999; Spring y col, 2000).

Tal como hemos indicado, por su estructura química estos oligosacáridos resisten la acción de los enzimas, llegando intactos hasta la parte distal del intestino delgado, intestino grueso y ciegos, donde serán sustrato para la flora bacteriana allí presente. Los mecanismos de acción de FOS y MOS son diferentes (Van Immerseel y col, 2002) y serán revisados a continuación.

Hoy en día este tipo de aditivos puede ser utilizado en el pienso como ingrediente y no como aditivo al pienso, pero uno de los problemas para su uso es el control de calidad.

4.3.1. FOS

FOS: Es un **sustrato específico para la microbiota beneficiosa**. Los microorganismos del aparato digestivo son sensibles a los sustratos que les llegan vía alimentación. FOS son utilizados selectivamente por un amplio rango de bacterias intestinales sacarolíticas, como *Bifidobacter adolescent*, *B. infants*, *B. longum* y *Lactobacilli* spp., pero no pueden ser utilizados ni por patógenos proteolíticos como *Clostridium* spp., *Staphylococcus* ni por *E. coli* (Mul y Perry, 1994). Sin embargo la inulina puede ser utilizada por Enterobacterias patógenas (Collett, 2004).

Los resultados obtenidos con FOS en avicultura son variables y parece que dependen de la dosis utilizada, aparte de la presencia del microorganismo capaz de utilizarlos (Apalajahti y Kettunen, 2002). Waldroup y col (1993) no encontraron mejoras en los rendimientos de los pollos cuando emplearon piensos con 0.375% de FOS, ni tampoco efectos sobre la contaminación de canales por *Salmonella*. Fukata y col (1999) encontraron resultados variables

en dos experimentos idénticos, en los que los pollos fueron infectados con *Salmonella* a los 7 días, utilizando una dosis de 0.1%. Bayley y col (1991), sin embargo, observaron una disminución de la colonización por *Salmonella* cuando emplearon 0.75% FOS, pero no así con la mitad de dosis. Xu y col (2003) observaron efectos positivos en los rendimientos zootécnicos y mayor número de bifidobacterias y lactobacilos y menor de *E. coli* en ciego e intestino a la dosis de 0.4%, pero no a la de 0.2%. También se han observado efectos positivos de los FOS frente a *Campylobacter* en broilers (Schoeni y Wong, 1994).

Griggs y Jacob (2005) concluyen que los **efectos positivos** de FOS pueden esperarse **a partir de la dosis de 0.4%** y Newman (2005) indica que se ha obtenido **más éxito** en la exclusión de *Salmonella* **mediante la combinación de FOS y probióticos**.

4.3.2. MOS

MOS: Bloqueo de bacterias patógenas. Los MOS se unen y secuestran a algunas bacterias potencialmente patógenas, que poseen estructuras (fimbrias tipo I) en su superficie capaces de unirse a determinados receptores compuestos por carbohidratos y presentes en la superficie de los enterocitos. Esta unión es un paso esencial en la patogénesis de muchas bacterias, por lo que la posibilidad de producir oligosacáridos análogos a los receptores es de gran interés para la prevención de enfermedades. Los carbohidratos con residuos de manosa poseen esta propiedad de unirse a las fimbrias y bloquear la adhesión de las bacterias patógenas a las células epiteliales.

4.3.2.1 Control de patógenos

Por esta razón, muchas de las experiencias con oligosacáridos en alimentación avícola se han llevado a cabo para **prevenir infecciones por *Salmonella***, efecto que en el caso de los FOS precisa de dosis superiores al 0.37% (Iji y Tivey, 1998). La adición de FOS o MOS en el pienso (Bailey y col, 1991; Fukata y col, 1999) o en el agua de bebida (Oyoyo y col, 1989) reducen la colonización por *Salmonella*. No todas las especies de este género responden de igual forma; algunas, como *S. infantis*, no poseen fimbrias sensibles a la manosa y son capaces de unirse a la mucosa intestinal; por ello la suplementación con manosa no reduce la colonización por *S. infantis* en pollos (Allen y col, 1997).

Del mismo modo, este mecanismo de acción no es válido para *Campylobacter*, que prolifera en el mucus intestinal, aunque los MOS si han mostrado control sobre los coliformes intestinales y hasta cierto punto sobre los ooquistes de coccidios (Stanley y col, 2004).

Entre otras experiencias desarrolladas para evaluar los efectos de MOS sobre el control de patógenos, Spring y col (2000) observaron que cuando se suplementaba con 0.4% MOS a pollos inoculados con *Salmonella*, éstos tenían una menor colonización cecal a los 10 días comparado con el control. Fairchild y col (2001) también detectaron mejoras en el peso vivo de pollos infectados con *E. coli*. Hofacre y col (2003) registraron una **disminución de la mortalidad en pollos infectados con *C. perfringens* cuando MOS (0.2%) se combinaban con un probiótico**, pero no cuando se utilizaban solos.

Recientemente se está especulando sobre la posibilidad de una acción directa de los MOS sobre el sistema inmunitario a través de las células dendríticas o de las células M localizadas

en las placas de Peyer del intestino, así como en una estimulación de una proteína de fase aguda denominada Lectina que se une a Manosa (LBP), (Wakeman, 2005).

4.3.2.2. Resultados productivos

En cuanto a la influencia de los MOS sobre los resultados productivos en pollos no infectados, Santin y col (2001) suplementaron a pollos con 0.1 y 0.2% de MOS, observando una mayor velocidad de crecimiento en los pollos que consumieron la dosis más alta. También observaron una mayor longitud de los *villi* intestinales, sugiriendo que los MOS también podrían tener un efecto trófico en la mucosa intestinal: tal como se ha indicado en el apartado de AGCC, los ácidos grasos volátiles, especialmente el ácido butírico, procedentes de la fermentación de los hidratos de carbono constituyen una fuente de energía importante para la mucosa.

Morales y col (2003) observaron que los MOS eran más eficaces en dietas ricas en PAN que en dietas ricas en maíz. Hooge y col (2003) observaron mejoras significativas en peso vivo e IC a los 49 días en pollos suplementados con MOS, comparado con el control negativo y similares a los obtenidos con bacitracina. Sims y col (2004), suplementando pavos con MOS a dosis variables, señalaron mejoras significativas en el IC. El conteo de *C. perfringens* a las 6 semanas de edad también fue significativamente inferior. Aparentemente, **las dosis efectivas de MOS en avicultura resultan inferiores que las de FOS** (Griggs y Jacob, 2005).

Kenyon y col (2003) indican una mejora del peso a los 42 días de 82 g y de 25 g en el índice de conversión (esta última mejora no estadísticamente significativa) al comparar MOS con avilamicina en condiciones comerciales que involucraron 6 granjas y un millón de pollos en Gran Bretaña. Por su parte Wakeman (2005), reporta en una recapitulación de 44 pruebas experimentales que la inclusión de MOS en el pienso de pollos condujo a una mejora media del crecimiento del 1.75% y del 1.89% en el índice de conversión sobre control negativo, mientras que en 15 pruebas comerciales, estas mejoras fueron del 2.2 y 2.02% respectivamente.

4.3.3. Otros

La lactosa se ha utilizado como prebiótico a dosis del 1.5-10% por no ser digerida por el tracto digestivo de las aves y actuar como sustrato de *Lactobacillus spp.* (Rutkowski y col, 2005; McDewitt y col, 2006), pero su coste a estas dosis lo hace por el momento prohibitivo. Su combinación con AGCC también ha dado lugar a mejoras productivas y a disminuciones de pH en buche y molleja (Rutkowski y col, 2005).

4.4. Probióticos

Hace ya más de 30 años que se utilizó con éxito por primera vez un probiótico en avicultura (Plail, 2006). El término probiótico se ha entendido de muchas formas a lo largo del tiempo. Hoy se define como un cultivo de microorganismos vivos que, utilizado como aditivo alimentario, beneficia al animal mejorando el equilibrio de su microbiota intestinal (Griggs y Jacob, 2005). En Estados Unidos se usa el término “direct-fed microbials” (DFM).

Para que un microorganismo sea útil como probiótico debe cumplir unas determinadas características, resumidas por Ewing y Cole (1994): debe ser seguro para el animal, sin causar

enfermedad ni toxicidad; resistente al ácido y a la bilis: debe llegar vivo al intestino, por lo que debe soportar el pH gástrico y los ácidos biliares del intestino delgado; debe ser capaz de colonizar el intestino, pues si no su efecto sería efímero: esto es necesario para lograr una exclusión competitiva eficaz; debe ser capaz de inhibir el crecimiento de patógenos; deben ser estables y viables durante los procesos tecnológicos y el almacenamiento. Santomá (1999) añade algunas características más, como elevada capacidad de multiplicación (debido al rápido tránsito digestivo), tolerancia a altas concentraciones de ácidos grasos volátiles en ciego e intestino grueso, resistencia a los antibióticos mas usados, y capacidad germinativa (si son esporas).

4.4.1. Origen

Los probióticos pueden proceder de la **microbiota indígena del intestino o ser ajenos a la misma**. En el primer caso, puede ser un subcultivo del contenido intestinal inespecífico (varias especies sin definir) o específico (un solo microorganismo). Los cultivos indefinidos a base de microflora intestinal de aves adultas, han mostrado más eficacia que los formados por una sola especie (Griggs y Jacob, 2005) Esto parece lógico, pues cuanto más variada sea la composición del probiótico, éste será eficaz contra más microorganismos (e.g. *Yersinia enterocolitica*; *Campylobacter fetus*; *S. typhimurium*; *S. kedougou*; *S. infantis*; *E. coli*; *Listeria monocytogenes*; Lan y col, 2005), se podrá usar en diferentes especies animales, podría tener menos efectos adversos, y cumplirá mejor con las características ideales de un probiótico (Cepero, 2005). El problema es que resultan muy difíciles de registrar debido a esa inespecificidad, que los hace más complicados de tipificar.

En el segundo caso, los microorganismos más estudiados en avicultura son *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Saccharomyces* (Guillot, 2000b; Patterson y Burkholder, 2003). Con todo la UE está financiando proyectos CRAFT para el desarrollo de productos basados en la Exclusión Competitiva para administrarlo durante los primeros días de vida del pollo, en los que se exige un análisis de riesgos minucioso especialmente en lo referente a la transmisión de resistencia a antibióticos y virulencia (Plail, 2006).

Lactobacilli se usan con frecuencia pues no son patógenos, son componentes de la microbiota intestinal normal, y se les suponen efectos beneficiosos (Ewing y Cole, 1994). Además hay cepas que tienen la capacidad de adherirse a las células epiteliales del ileon de pollos (Jin et al., 1996). Algo similar se puede decir de *Enterococcus* (Guillot, 2000b). *Bacillus* es más estable a los tratamientos térmicos y al pH gástrico debido a su capacidad de formar esporas, que deben germinar en el intestino para ser activos. No pueden adherirse a la pared intestinal pero tienen una gran capacidad de multiplicación. Favorecen el desarrollo de *Lactobacillus* y deprimen el crecimiento de *E. coli*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *Streptococcus*, *Salmonella* y *Enterobacteriaceae* en general (e.g. Teo y Tan, 2006). Además, durante la germinación de las esporas se liberan enzimas que ayudan a la digestión (Gedek, 1999). *Streptococcus ssp.* también forman parte de la microbiota intestinal y producen ácido láctico. Sus características beneficiosas son similares a las de los lactobacilos, pero se han estudiado menos porque algunas especies pueden ser patógenas (Ewing y Cole, 1994).

Saccharomyces es muy usado en medicina humana para combatir las diarreas causadas por antibióticos. Sus características favorables según Hooge (1995) y Stern (1995) son que crece muy bien a 37 °C (con lo que sobrevive a la mayor temperatura corporal de las aves), resiste el pH de la molleja y tiene un efecto antimicrobiano, del cual no se conocen bien los mecanismos de acción. Sin embargo, no es capaz de colonizar el tracto gastrointestinal, por lo que se debe administrar a diario para que funcione. Como se ha indicado en el apartado anterior, se está

estudiando la presencia de carbohidratos complejos en su superficie, que pueden tener propiedades deseables para controlar los patógenos intestinales, como adsorción de bacterias y aumento de la secreción de Ig A (Spring, 2000).

4.4.2. Mecanismo de acción. Exclusión competitiva

El principal mecanismo de acción de los probióticos es la exclusión competitiva, que según Lan y col (2005) se define como cualquier acción por parte de los microorganismos comensales del tracto gastrointestinal, que aumenta la resistencia a la colonización por parte de patógenos invasores, tales como la ocupación de los lugares de anclaje en la superficie de la mucosa intestinal, la competencia por los nutrientes y la liberación de bacteriocinas. Por tanto el principal uso de los probióticos es combatir a los microorganismos patógenos (*Salmonella*, *Campylobacter*, etc.).

Además se han sugerido muchas otras acciones beneficiosas, como el aumento de la integridad intestinal (Lan y col, 2005), el aumento de la actividad enzimática del animal (Sissons, 1989; Xu y col, 2003); la disminución de la producción de amoníaco al reducir la actividad ureasa (Yeo y Kim, 1997); la neutralización de enterotoxinas (Mitchell y Kentworthy, 1976); la modulación general del sistema inmunitario (Gedek, 1999; Koenen y col, 2004; Körösi Molnár y col, 2005b), por medio del control de las citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias (Téllez y col, 2006); la disminución del pH, inhibiendo el crecimiento de patógenos (Ewing y Cole, 1994), aumento en la producción de mucina (Téllez y col 2006), o la adsorción de patógenos gram negativos (Stern, 1995).

Varios autores han estudiado la eficacia de los probióticos contra *Salmonella*, encontrándose respuestas positivas, entre otros, con *Bacillus subtilis* (Chambers y Lu, 2002), que se debe suministrar de forma continuada ya que no se adhiere a la pared intestinal (La Ragione y col, 2001; La Ragione y Woodward, 2003) y con diversas cepas de lactobacilos (Jin y col, 1997; Pascual y col, 1999).

Así, el empleo de *Lactobacillus* spp, sólo o combinado con *Streptococcus faecium*, ha dado respuestas positivas contra *Salmonella* (e.g. Jin et al., 1997) y también contra *Campylobacter jejuni* (Morishita y col, 1997, Chang y Chen, 2000; Chaveerach y col, 2004). También se ha sugerido que los lactobacilos podrían ser eficaces contra la coccidiosis. Tierney y col (2004) comprobaron la capacidad de inhibición de *Eimeria tenella* in vitro por lactobacilos obtenidos de pollos. Dalloul y col (2001), empleando pollos vivos infectados con *E. acervulina*, observaron una excreción de ooquistes un 75% menor en los animales tratados con lactobacilos.

Line y col (1998) aumentaron la resistencia de las aves tratadas con *Saccharomyces cerevisiae* frente a *Salmonella*, pero no frente a *Campylobacter*, explicando este resultado porque *Salmonella* tiene afinidad por la manosa de la pared celular de la levadura y *Campylobacter* no; pero en otras pruebas (Stern, 1995) esta levadura parece ser también eficaz contra *Campylobacter*.

Bailey y col (1998) sugieren que una explicación del fallo, en ocasiones, de la exclusión competitiva para controlar *Salmonella* en la práctica, se puede deber a una contaminación ya en incubadora, donde un solo huevo contaminado es suficiente para que haya una transmisión horizontal importante. Apalajahti y Kettunen (2002) afirman que la administración de probióticos sólo es eficaz cuando al mismo tiempo se cubren sus necesidades para el crecimiento, por lo que **los productos simbióticos (probiótico + prebiótico) serían la solución más adecuada**. En este sentido Bozkurt y col (2005) encontraron un efecto aditivo sobre la

mejora del índice de conversión al combinar *Lactobacillus* con manano-oligosacáridos en pollos criados hasta los 42 días.

Por otra parte, hemos indicado repetidas veces que una norma general, en el uso de los APC y sus alternativas, y por tanto aplicable a los probióticos es que cuanto peor es la situación inicial, más marcado es el efecto positivo de su uso. Por ejemplo, Line y col (1997) demostraron la eficacia de *Saccharomyces cerevisiae* spp *boulardii* en reducir los recuentos de *Salmonella* y *Campylobacter* en ciego, sólo después de someter a los broilers a un estrés por transporte.

En cuanto a otros microorganismos de menor importancia en cuanto a seguridad alimentaria, Teo y Tan (2006) también describen un efecto de *Bacillus subtilis* en pollos infectados con *E. coli* y estudios de Hofacre y col (2003, 2005) muestran resultados prometedores para el control de *C. perfringens* por exclusión competitiva.

4.4.3. Resultados zootécnicos

Los probióticos también tienen efectos positivos sobre los rendimientos de los animales, en **dependencia de su estado sanitario**. Así, Teo y Tan (2006), en broilers infectados o no con *E. coli*, observaron con *Bacillus subtilis* mejoras en IC de 100 y 150 g/kg en los pollos sin infectar e infectados, respectivamente, comparado con el control negativo, y de 97 y 152 g de peso vivo a 42 días para los pollos sin infectar e infectados, respectivamente. La mortalidad en los pollos infectados se redujo del 14 al 8%. Por su parte, Gil de los Santos y col (2005) probaron la eficacia de *S. boulardii* y *B. cereus* var *toyoi* en pollos infectados con *S. enteritidis*. A los 47 días los pesos vivos fueron un 6.7% y 16.4% y el IC un 10.0% y 12.0% mejores para la levadura y el bacilo, respectivamente, comparados con el control negativo.

Hooge y col (2004), en una serie de experiencias señalan mejoras del 8.7% en peso vivo y 6.9% en IC respecto al control negativo a 42 días, con resultados similares a los obtenidos con bacitracina con *Bacillus subtilis*, cuando los pollos fueron criados en condiciones de alta densidad (16 vs 13.5 pollos/m²), yacija reutilizada y pollito de mala calidad (alta incidencia de onfalitis). En condiciones experimentales normales, las mejoras fueron del 2.9% en peso vivo y del 1.5% en IC a 42 días

En experiencias realizadas sin desafíos provocados, también con *Bacillus subtilis*, Lund y col (2005), en pruebas realizadas en 4 centros experimentales de la UE observan unas mejoras entre el 1 y el 7% en el crecimiento de los pollos a 35-42 días, sin diferencias significativas en el IC.

Huang y col (2004) también encontraron mejoras en pollos cuando se empleaban *L. acidophilus* o *L. casei*, efecto también observado por Angel y col (2005) cuando empleaban piensos de baja concentración de nutrientes. Finalmente, Morales y col (2003) observaron un mayor efecto de la utilización de *Saccharomyces cerevisiae* sobre el crecimiento de los pollos a 42 días en dietas ricas en (PNA) que en dietas a base de maíz.

En condiciones de campo los resultados han sido más variables (Stavric y D'Aoust, 1993; Guillot, 2000) y Simon y Jadamus (2002), tras revisar 22 estudios con probióticos, observan una tendencia a la mejora del crecimiento y de la conversión del orden del 1-2%.

El uso de probióticos también influye sobre las **características de la canal**. Así, Estrada y col (2001) señalan una reducción del número de canales de pollo decomisadas por celulitis cuando

se les administró *Bifidobacterium bifidum*. Kalavathy y col (2003), empleando diferentes cepas de lactobacilos, observaron mejoras en el peso vivo e IC de pollos con 42 días de edad y una reducción de la grasa abdominal, y señalan un efecto hipolipidémico de los lactobacilos, al observar una disminución del colesterol (total y LDL) y de los triglicéridos en plasma.

De acuerdo con de Lange (2005), uno de los principales problemas de la aplicación práctica de prebióticos y probióticos en pollos, es que una **excesiva proliferación de microflora intestinal**, aunque no sea patógena, para desarrollar el mecanismo de la exclusión competitiva, **da lugar a un empeoramiento del IC**, incluso si este aumento de la microflora intestinal está basado en *Lactobacilli*.

En la lista de aditivos publicada por la Comisión Europea en mayo de 2006 figuran 46 microorganismos de 6 géneros distintos notificados y 3 combinaciones de dos microorganismos.

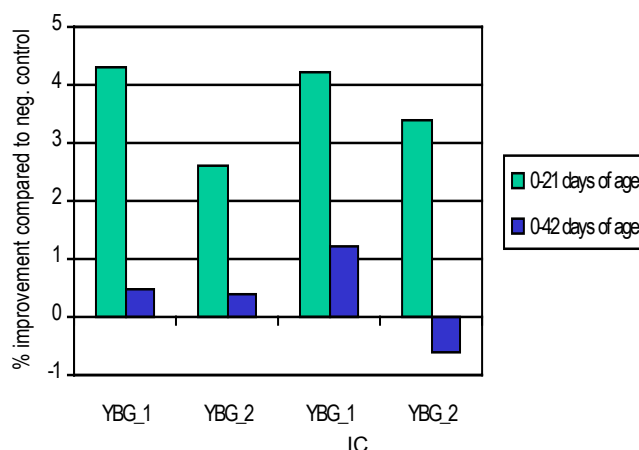
4.5. Otros productos

Cuando se empezaron a buscar alternativas para los APC, se pasó revista a multitud de productos que, aparentemente, podrían ejercer algún efecto similar o complementario de los APC (Santomá, 1999; Cepero, 2005). Muchos de estos productos son, realmente, ingredientes comunes de los piensos, como pueden ser las enzimas, vitaminas, oligoelementos, etc. que no serán tratados aquí. Otros, como el empleo directo de inmunoglobulinas, no han prosperado, fundamentalmente debido a su elevado coste y variabilidad en su resultado. Para terminar esta revisión, se analizarán brevemente dos tipos de productos que pueden constituir otra opción más como alternativa a los APC: los glucanos y los taninos.

4.5.1. β -D-glucanos

Los β -D-glucanos son polisacáridos de glucosa que se obtienen de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae*. Normalmente se les conoce como β -glucanos y están formados por cadenas lineales y ramificadas. Las cadenas lineales son polímeros de glucosa con enlaces β -(1,3) y β -(1,6), mientras las cadenas ramificadas consisten de un polímero β -(1,3) con varias ramificaciones con enlaces β -(1,6). Los β -glucanos **actúan estimulando el sistema inmune de una manera inespecífica**. La superficie de los macrófagos tiene un receptor específico para β -(1,3)-glucano que, cuando se activa, produce la estimulación inmune. También se encuentran implicados los neutrófilos y las “células asesinas naturales” (Williams y col, 1996). Gutiérrez del Alamo y col (2005) probaron el efecto de los glucanos en pollos infectados, o no, con el síndrome MAS (figura 4). En los animales control, no se observó efecto alguno de los glucanos, pero en los animales infectados los glucanos mejoraron la velocidad de crecimiento e IC durante las 3 primeras semanas, diluyéndose el efecto a partir de esta edad.

Figura 4. Efecto de dos tipos de β -glucanos (YBG_1 e YBG_2) sobre los rendimientos zootécnicos de pollos infectados con síndrome MAS (Gutiérrez del Alamo y col, 2005)



La estimulación de los macrófagos produce los siguientes efectos: fagocitosis de patógenos, aumento de la producción de anticuerpos, respuestas intercelulares como producción de citoquinas y prostaglandinas y producción de sustancias bactericidas. Sin embargo, también tiene sus **efectos negativos**, especialmente cuando se sobredosifican: **sobreestimulación del sistema inmune** y depresión del consumo y del crecimiento (Klasing y col, 1995; Stahly, 1996).

4.5.2. Taninos

Los taninos son polifenoles presentes de forma natural en las plantas y su principal característica es que se ligan a la proteína y la precipitan, disminuyendo el coeficiente de digestibilidad de la proteína en particular y de la MS, en general. También pueden formar complejos con el almidón, la celulosa o los minerales. Dentro de los taninos se distinguen dos grupos, los hidrolizables y los condensados. Los primeros son ésteres del ácido gálico y dímeros (ácidos digálico o elágico) con monosacáridos. Los segundos están formados por unidades aromáticas (flavonoides) unidas por átomos de carbono. Otras características de los taninos son su poder antioxidante y sus propiedades antibacterianas.

Kubena y col (2001) probaron, en pollos infectados con *S. typhimurium*, el efecto de dosis crecientes de ácido tánico sobre la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) a nivel cecal y colonización por *Salmonella*, observando cambios en las concentraciones de ácido propiónico y AGV totales pero no en la colonización por *Salmonella*. Por su parte Zrustova y col (2005) observaron *in vitro*, que la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los taninos condensados de granilla de uva frente a dos cepas de *C. perfringens* tipo A fue del 1%, sin afectar a la microflora comensal del pollo a esta dosis, ni a los rendimientos productivos hasta una dosis del 3%. Gutiérrez del Alamo y col (datos no publicados) observaron mejoras en el crecimiento e IC de los pollos, con o sin síndrome MAS, cuando emplearon taninos en el pienso, siendo este efecto más acusado durante los primeros días de vida.

5. Conclusiones

La decisión de prohibir la utilización de los APC en la UE por los riesgos de resistencias cruzadas a antibióticos importantes por parte de microorganismos patógenos para el ser humano, transmitidas por microorganismos presentes en los animales todavía es controvertida. Además del perjuicio económico para la ganadería, es posible que la eliminación de estos aditivos ocasione mas problemas de zoonosis que antes de la prohibición, sino se toman medidas alternativas, con el agravante de que se están utilizando más antibióticos, de características similares a los que se usan en humanos, por vía terapéutica para el tratamiento de los problemas entéricos que se presentan con más frecuencia, a consecuencia de esta prohibición.

La experiencia de países en los que la prohibición es efectiva desde hace más años, indica que para afrontar esta situación es básico mejorar las condiciones de alojamiento, manejo, genética, sanidad y nutrición de los animales.

En este trabajo se presentan las medidas nutricionales más efectivas. Desde el punto de vista de diseño del pienso es importante el tipo de cereal con el consiguiente tipo de enzimas más apropiado, la reducción de la proteína indigestible en el pienso mediante la utilización de fuentes proteicas fácilmente asimilables y aminoácidos industriales, minimizar la presencia de FAN, la calidad de las grasas y la granulometría del pienso. La utilización de ionóforos como coccidiostáticos contribuye al control de la mayor incidencia de EN detectada tras la prohibición de los APC.

En cuanto a los aditivos más efectivos, se revisan las experiencias más recientes en cuanto a utilización de aceites esenciales, extractos de plantas, ácidos orgánicos, prebióticos, probióticos, β -glucanos y taninos. La experiencia acumulada, después de varios años de investigación, indica que realmente existen productos alternativos a los APC para la industria avícola, aunque no son imprescindibles, si se garantizan unas condiciones de producción adecuadas. En este sentido, podríamos calificar estos productos como un seguro que, en general, cuesta más caro y es menos eficaz que los APC.

La eficacia de los nuevos productos a nivel de campo se verá a medida que transcurra el tiempo, pues los APC se han empleado hasta el último momento en España, y ha pasado poco tiempo desde la prohibición. A nivel experimental hay datos prometedores que se están empezando a confirmar en el campo. Se están detectando nuevos mecanismos de acción de estos productos (por ejemplo las nuevas funciones descritas para el ácido butírico y para los AGCM), así como nuevas formulaciones comerciales y todavía queda mucho por conocer sobre estos aditivos alternativos. Dado el modo de acción, casi siempre específico de los productos disponibles, cabe pensar que la combinación de dos o más productos de los analizados con anterioridad pueda ofrecer mejores resultados que el empleo de un solo producto.

En este sentido combinaciones de AGCC y AGCM, ácidos orgánicos y aceites esenciales por su mecanismo de acción complementario, así como de probióticos + prebióticos por otro, ofrecen resultados prometedores. Con todo, en este último caso la prevención de *Salmonella* parece el objetivo más indicado, por su mecanismo de acción de exclusión competitiva y por la posible excesiva proliferación de microflora intestinal que inducen, que a su vez perjudica el IC. Habrá que prestar especial atención a la consistencia de los resultados y su continuidad con el paso del tiempo, especialmente cuando lo que se pretende es actuar sobre los microorganismos potencialmente patógenos del intestino.

Por otra parte, habrá que estar atentos a las exigencias que vaya imponiendo la legislación en el uso de estas alternativas, puesto que muchos de estos aditivos se acogen actualmente a categorías que no corresponden a su uso como mejoradores de las producciones. Este es el caso de los extractos de plantas y aceites esenciales (utilizados como aromatizantes), y de la mayor parte de los ácidos orgánicos (utilizados como conservantes). Con toda probabilidad, si se quiere hacer una promoción de estos aditivos por las funciones descritas en este trabajo, se requerirán estudios toxicológicos, de impacto medioambiental, de seguridad alimentaria, etc. mucho más exigentes que los necesarios bajo el epígrafe con el que se están utilizando en la actualidad.

6. Referencias bibliográficas

- Aktug, S.E.; Karapinar, 1986. *Int. J. Food Microbiol.* 3, 349-354.
- Allen, P. C.; Lydon, J.; Danforth, H. D. 1997. *Poultry Sci.* 76, 1156-1163.
- Angel, R.; Dalloul, R. A.; Doerr, J. 2005. *Poultry Sci.* 84, 1222-1231.
- Antongiovanni, M; Buccioni, A.; Petacchi, F.; Martín, A. y Minieri, S. 2005. *Proceedings 15th European Symposium on Poultry Nutrition*. Balatonfüred, Hungría, 25-29 de Septiembre de 2005. pp. 260-261.
- Apajalahti, J.; Kettunen, A. 2002. XVIII Curso de especialización FEDNA, Barcelona, pp. 41-51.
- Bailey, J.S., Blankenship, L.C.; Cox, N.A. 1991. *Poult. Sci.* 70, 2433-2438.
- Bailey, J.S., Cason, J.A.; Cox, N.A. 1998. *Poultry Sci.* 77, 394-399.
- Balevi, T.; Uçan, U. S.; Cosun, B.; Kurtogu, V.; Çetingül, I. S. 2001. *Brit. Poultry Sci.* 42, 456-461.
- Balloy, D. 2003. *Filières Avicoles*, Juin 2003, 59-61.
- Bampidis, V. A.; Christodoulou, V.; Florou-Paneri, P.; Christaki, E.; Chatzopoulou, P. S.; Tsiligianni, T.; Spais, A. B. 2005. *Brit. Poultry Sci.* 46, 595-601.
- Bedford, M. 2000. *WPSA J.*, 56, 347-365.
- Bjernum, L.; Pedersen, K.; Engberg, R. 2005. *Avian Dis.* 49(1), 9-15.
- Bozkurt, M.; Küçükyilmaz, K.; Çath, U.; Çinar, M. 2005. *Proceedings 15th European Symposium on Poultry Nutrition*. Balatonfüred, Hungría, 25-29 de Septiembre de 2005. pp. 288-290.
- Briskin, D. P. 2000. *Plant Physiology* 124, 507-514.
- Bruggeman, G.; Deschepper, K.; Molly, K. 2002. *Feed Mix*, 10 (6), 18-19.
- Bywater, R. J. 2005. *Poultry Sci.* 84, 644-648.
- Cepero, R. 2005. XII Congreso Bienal Asociación Mexicana de Nutrición Animal (AMENA) Puerto Vallarta, Jalisco (CD-Rom).
- Cervantes, H. 2006. *Poultry Int.* 14 (4), 10 – 14.
- Chambers, J. R.; Lu, X. 2002. *J. Appl. Poultry Res.* 11, 320-327.
- Chang, M. H.; Cheng, T. C. 2000. *J. Food. Prot.* 63, 1594-1597.
- Chaveerach, P.; Keuzenkamp, D. A.; Urlings, H. A. P.; Lipman, L. J. A.; Van Knapen, F. 2002. *Poultry Sci.* 81, 621-628.
- Chaveerach, P.; Keuzenkamp, D. A.; Lipman, L. J. A.; Van Knapen, F. 2004. *Poultry Sci.* 83, 330-334.
- Cherrington, C. A.; Hinton, M.; Chopra, I. 1990. *J. Appl. Bacteriol.* 68, 69-74.
- Choct, M. 2000. *Proc. XXI World's Poultry Congress*, Montreal, Canada, CD-Rom
- Collett, S. 2004. En: "Interfacing Immunity, Gut, Health and Performance". Eds. L.A. Tucker y J.A. Taylor-Pickard. Pp. 107-115. Nottingham University Press. Nottingham.

- Comisión Europea. 2006. Health Consumer Protection Directorate-General. Community Register of Feed Additives pursuant to Regulation (EC). Released 29 May 2006. Rev. 4.
- http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/comm._register
- Cutler, S. A.; Rasmussen, M. A.; Hensley, M. J.; Wilhems, K. W.; Griffith, R. W.; Scanes, C. G. 2005. *Brit. Poultry Sci.* 46, 708-716.
- Çabuk, M.; Bozkurt, M.; Alçiçek, A. 2005. Proceedings 15th European Symposium on Poultry Nutrition. Balatonfüred, Hungría, 25-29 de Septiembre de 2005. pp. 250-252.
- Dalloul, R.A.; Lillehoj, H. S.; Doerr, J. A. 2001. *Maryland Nutr. Conf. Feed Manuf. Proc.* 48, 30-41.
- De Lange, L. (2005). *World Poultry* 21 (10), 26-28.
- Den Hartog, L. A.; Gutiérrez del Álamo, A.; Doorenbos, J.; Flores, A. 2005. *Proc. Eur. Symp. on Poultry Nutrition*, Budapest.
- Deschepper, K. ; Lippens, M. ; Huyghebaert, G.; Molly, K. 2003. Proceedings 14th European Symposium on Poultry Nutrition. Lillehammer, Noruega, 10-14 de Agosto de 2003. pp. 189-190.
- Dickens, J. A.; Ingram, K. D. 2001. *J. Appl. Poultry Res.* 10, 194-198.
- Dierick, N.A.; Decuyper, J.A.; Molly, K.; Van Beek, E.; Vanderbeke, E. 2002. *Livestock Production Science* 76, 1-16.
- Dorman, H. J. D.; Deans, S. G. 2000. *J. Appl. Microbiol.* 88, 308-316.
- Ducatelle, R. V. A., Van Immerseel, F., Cauwerts, K., Janssens, G., De Smet, I., De Buck, J.; Haesebrouck, F. 2001. *Proc. 13th Eur. Symp. on Poultry Nutrition*, pp. 90-97, Blankenberge, Bélgica.
- Estrada, A.; Wilkie, D. C.; Drew, M. 2001. *J. Appl. Poultry Res.* 10, 329-334.
- Ewing, W.N.; Cole, D.J.A. 1994. The living gut. Context, Dungannon, N. Ireland.
- Fairchild, A. S.; Grimes, J. L.; Jones, F. T.; Wineland, M. J.; Edens, F. W.; Sefton, A. E. 2001. *Poultry Sci.* 80, 562-571.
- Farag, R.S.; Daw, Z.Y.; Hewedi, F.M.; El-Baroty, G.S.A. 1989. *J. Food Prot.* 52, 665-667.
- Ferket, P. (2005). Citado por O'Keefe en *Poultry International*. June 2005 p. 26-30.
- Francesch, M.; Pérez-Moya, S.; Badiola, I.; Brufau, J. 1999. *Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition*, Veldhoven, Holanda, pp. 242-245
- Friedman, M.; Henika, P.R.; Mandrell, R.E. 2002. *J. Food Prot.* 65, 1545-1560.
- Fukata, T., Sasai, K., Miyamoto, T.; Baba, E. 1999. *J. Food Prot.* 62, 229-233.
- Gabriel, I.; Mallet, S.; Sibille, P. 2005. *Prod. Anim.* 18 (5), 309-322.
- Gedek, B.R. 1999. *Proc. XII Eur. Symp. on Poultry Nutrition*, Veldhoven, The Netherlands, pp. 83-90.
- Giannenas, I.; Florou-Paneri, P.; Papazahariadou, M.; Christaki, E.; Botsoglou, N.A.; Spais, A.B. (2004). *Archives of Animal Nutrition* 57, 99-106.
- Gil de los Santos, J. R.; Storch, O. B.; Gilturmes, C. 2005. *Brit. Poultry Sci.* 46, 494-497.
- Griggs, J. P.; Jacob, J. P. 2005. *J. Appl. Poultry Res.* 14, 750-756.
- Guillot, J.F. 2000. *World Poultry* 16(7),18-21.
- Guillot, J.F. 2000b, *Feed Mix Special* 2000. 28-30
- Guo, F. C.; Williams, B. A.; Kwakkel, R. P.; Li, H. S.; Li, X. P.; Luo, J. Y.; Li, W. K.; Verstegen, M. W. A. 2004a. *Poultry Sci.* 83, 175-182.
- Guo, F. C.; Kwakkel, R. P.; Williams, B. A.; Li, W. K.; Li, H. S.; Luo, J. Y.; Li, X. P.; Wei, Y. X.; Yan, Z. T.; Verstegen, M. W. A. 2004b. *Brit. Poultry Sci.* 45, 684-694.
- Guo, F. C.; Kwakkel, R. P.; Soede, J.; Williams, B. A.; Verstegen, M. W. A. 2004c. *Brit. Poultry Sci.* 45, 793-797.
- Gustafson, R. H.; Bowen, R. E. 1997. *J. Appl. Microb.* 83, 531-541.

- Gutiérrez del Álamo, A.; Santomá, G.; Schuring, M. 2005. *Feed Mix Int.* 13 (4), 10-14.
- Haddadin, M. S. Y.; Abdulrahim, S. M.; Hashlamoun, E. A. R.; Robinson, R. K. 1996. *Poultry Sci.* 75, 491-494.
- Halle, I.; Toman, R.; Bauermann, U.; Henning, M.; Köhler, P. 2005. *Proceedings 15th European Symposium on Poultry Nutrition*. Balatonfüred, Hungría, 25-29 de Septiembre de 2005. pp. 279-281.
- Hammer, K.A.; Carson, C.F.; Riley, T.V. 1999. *J. Appl. Microbiol.* 86, 985-990.
- Hernández, F.; Madrid, J.; García, V.; Orengo, J.; Megías, M. D. 2004. *Poultry Sci.* 83,169-174.
- Hernández, F.; García, V.; Madrid, J.; Orengo, J.; Catalá, P.; Megías, M. D. 2006. *Brit. Poultry Sci.* 47, 50-56.
- Hinton, M.; Linton, A. H. 1988. *Vet. Rec.* 123, 416-421.
- Hofacre, C. L.; Beacorn, T.; Collett, S.; Mathis, G. 2003. *J. Appl. Poultry Res.* 12, 60-64.
- Hofacre, C.L.; Mathis, G.F.; Quiroz, M.A. 2005. *Int. Poultry Prod.* 13 (4), 7-9.
- Hooge, D.M. 1995. *Poultry Digest* 54, 12- 19.
- Hooge, D. M.; Sims, M. D.; Sefton, A. E.; Connolly, A.; Spring, P. 2003. *J. Appl. Poultry Res.* 12, 461-467.
- Hooge, D.M.; Frehner, M.; Losa, W.P.; Chuffart, M.; Williams, P.G. 2003b. *Proceedings 14th European Symposium on Poultry Nutrition*. Lillehammer, Noruega, 10-14 de Agosto de 2003. pp. 195-196.
- Hooge, D. M.; Ishimaru, H.; Sims, M. D. 2004. *J. Appl. Poultry Res.* 13, 222-228.
- Huang, M. K.; Choi, Y. J.; Houde, R.; Lee, J. W.; Lee, B.; Zhao, X. 2004. *Poultry Sci.* 83, 788-795.
- Huurne, A. A. H. M.; Smits, C. H. M. 1999. *Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition*, Veldhoven, Holanda, pp. 285-300.
- Iji, P.A.; Tivey, D.R. 1998. *World's Poultry Sci. J.* 54, 129-143.
- Iji, P.A.; Tivey, D.R. 1999. *Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition*, Veldhoven, Holanda, pp. 193-201.
- Isolauri, E.; Salminen, S.; Ouwenhand, A.C. 2003. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 18, 299-313.
- Jamroz, D.; Wiliczekiewicz, A.; Wartecki, T.; Orda, J.; Skorupinska, J. 2005. *Brit. Poultry Sci.* 46, 485-493.
- Jin, L. Z.; Ho, Y.W.; Abdullah, N.; Ali, M.A. y Jalaludin, S. (1996). *Lett. Appl. Microbiol.* 22, 229-232.
- Jin, L. Z.; Ho, Y.W.; Abdullah, N.; Jalaludin, S. 1997. *WPSA J.* 53(4),351-368.
- Kalavathy, R.; Adbullah, N.; Jalaludin, S.; Ho, Y. W. 2003. *Brit. Poultry Sci.* 44, 139-144.
- Kamel, C. 2000. *Feed Mix Special* 2000, 19-21.
- Kamel, C. 2006. (no publicado).
- Kenyon, S.; Tucker, L.A.; Spring, P. 2003. *Proceedings 14th European Symposium on Poultry Nutrition*. Lillehammer, Noruega, 10-14 de Agosto de 2003. pp. 195-196.
- Kim, J. Marshall, M.R.; Wei, C.I. 1995. *J. Agric. Food Chem.* 43, 2839-2845.
- Klasing, K.C.; Roura, E.; Korver, D. 1995. *XI Curso de Especialización. Avances en Nutrición y Alimentación Animal*. Fundación para el desarrollo de la Nutrición Animal. Barcelona. pp. 156-168.
- Klayman, D. L. 1985. *Science* 228, 1049-1055.
- Knarreborg, A.; Simon, M.A.; Engberg, R.M.; Jensen, B.B.; Tannock, G.W.(2002). *Applied and Environmental Microbiology* 68, 5918-5924.
- Koenen, M. E.; Kramer, J.; Van der Hulst, R.; Heres, L.; Jeurissen, S. H. M.; Boersma, W. J. A. 2004. *Brit. Poultry Sci.* 45, 355-366.
- Köhler, B. 2000. *World Poultry*, 16(5), 57-58.

- Körösi Molnár, A.; Podmaniczky, B.; Kürti, P.; Moerk Jensen, M.; Farkas, Zs.; Szabó, Zs. 2005a. Proceedings 15th European Symposium on Poultry Nutrition. Balatonfüred, Hungría, 25-29 de Septiembre de 2005. pp. 273-275.
- Körösi Molnár, A.; Podmaniczky, B.; Kürti, P.; Moerk Jensen, M.; Farkas, Zs.; Szabó, Zs. 2005b. Proceedings 15th European Symposium on Poultry Nutrition. Balatonfüred, Hungría, 25-29 de Septiembre de 2005. pp. 276-278.
- Kristiansen, A.L.; Engstad, R. 2003. Proceedings 14th European Symposium on Poultry Nutrition. Lillehammer, Noruega, 10-14 de Agosto de 2003. pp. 193-194.
- Ktulu, H.R.; Karazoak, E. 1999. Proc. 12th Eur. Symp. Poultry Nutrition, pp. 264- 265, Veldhoven, Holanda.
- Kubena, L. F.; Byrd, J. A.; Young, C. R.; Corrier, D. E. 2001. Poultry Sci. 80, 1293-1298.
- La Ragione, R. M.; Casula, G.; Cutting, S. M.; Woodward, M. J. 2001. Vet. Microbiol. 79,133-142.
- La Ragione, R. M.; Woodward, M. J. 2003. Vet. Microbiol. 94, 245-256.
- Lan, Y.; Verstegen, M.W.A.; Tamminga, S.; Williams, B.A. 2005. World's Poultry Science Journal, 61, 95-104.
- Langhout, P. 2000. Feed Mix Special 2000, 24-27.
- Lee, K. W.; Everts, H.; Kappert, H. J.; Yeom, K. H.; Beynen, A. C. 2003a. J. Appl. Poultry Res. 12, 394-399.
- Lee, K. W.; Everts, H.; Kappert, H. J.; Frehner, M.; Losa, R.; Beynen, A. C. 2003b. Brit. Poultry Sci. 44, 450-457.
- Lee, K. W.; Everts, H.; Kappert, H. J.; Frehner, M.; Losa, R.; Beynen, C. 2003c. Poultry Sci., 44 (3), 450-457.
- Leeson, S.; Namkung, H.; Antongiovanni, M.; Lee, E. H. 2005. Poultry Sci. 84, 1418-1422.
- Lewis, M.R.; Rose, S.P.; McKenzie, A.M.; Reece, L.P. 2003. Proceedings 14th European Symposium on Poultry Nutrition. Lillehammer, Noruega, 10-14 de Agosto de 2003. pp. 197-198.
- Line, J.E., Bailey, J.S., Cox, N.A.; Stern, N.J. 1997. Poultry Sci. 76,1227-1231.
- Line, J.E., Bailey, J.S., Cox, N.A., Stern, N.J.; Tompkins, T. 1998. Poultry Sci. 77, 405-410.
- Losa, R. and Köhler, B. 2001. Proc. XIII Eur. Symp. on Poultry Nutrition, Blankenberge (Belgium), pp. 133-134.
- Lovland, A. Y Kaldhusdal, M. (2001). Avian Pathology, 30, 73-81.
- Lu, J.; Hofacre, C.L.; Lee, M.D. 2006. J Appl. Poult. Res. 15, 145-153.
- Lund, B.; Hansen, S.; Kürti, P. 2005. Proceedings 15th European Symposium on Poultry Nutrition. Balatonfüred, Hungría, 25-29 de Septiembre de 2005. pp. 263-265.
- Mateos, G. G.; Lázaro, R. 2001. Memoria XXXVIII Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Córdoba, pp. 63-76
- Mateos, G.G.; Lázaro, R.; Gracia, M.I. (2002). J. Appl. Poult. Res. 11, 437-452.
- Martel, A.; Devriese, A.; Cauwerts, k.; De Gussem, K.; Decostere, A.; Haesebrouck, F. 2004. Avian Pathol. 33(1), 3-7.
- Mathis, G.F.; van Dam, J.T.P.; Corujo, A. 2006. World Poultry 22 (3), 12-13.
- McDewitt, R.M.; Broker, J.D.; Acamovic, T.; Sparks, N.H.C. (2006). World's Poultry Science Journal 62, 221-247.
- Mellor, S. 2005. Feed Mix 13 (4), 22-24.
- Mitchell, I.D.G.; Kenworthy, R. 1976. J. Appl. Bacteriol. 41: 163-174.
- Mitsch, P.; Zitterl-Eglseer, K.; Köhler, B.; Gabler, C.; Losa, R.; Zimpernik, I. 2004. Poultry Sci. 83, 669-675.

- Morales, R. ; Francesch, M. y Brufau, J. 2003. Proceedings 14th European Symposium on Poultry Nutrition. Lillehammer, Noruega, 10-14 de Agosto de 2003. pp. 201-202.
- Morishita, T. Y.; Aye, P. P.; Harr, B. S.; Cobb, C. W.; Clifford, J. R. 1997. Avian Dis. 41, 850-855.
- Moser, M.; Messikommer, R.; Pfrirter, H.P.; Wenk, C. 2003. Proceedings 14th European Symposium on Poultry Nutrition. Lillehammer, Noruega, 10-14 de Agosto de 2003. pp. 203-204.
- Moser, M.; Messikommer, R.; Pfrirter, H.P. ; Wenk, C. 2003b. Proceedings 14th European Symposium on Poultry Nutrition. Lillehammer, Noruega, 10-14 de Agosto de 2003. pp. 205-206.
- National Research Council 1999. En: The use of drugs in food animals: Benefits and risks. CABI Pub., Wallingford, UK.
- Newman, K. (2005) World Poultry 21 (8), 16-17.
- Organización Mundial de la Salud (2003). Impacts of Antimicrobial Growth Promoter Termination in Denmark. Reference: WHO/CDS/CPE/ZFK.2003.1. Foulum, Denmark, 2002. <http://www.who.int/salsurv/en/Expertsreportgrowthpromoterdenmark.pdf>
- Oviedo-Rondón, E. O.; Clemente-Hernández, S.; Williams, P.; Losa, R. 2005. J. Appl. Poultry Res. 14, 657-667.
- Oyofe, B.A., Droleskey, R.E., Norman, J.O., Mollenhauer, H.H., Ziprin, R.L., Corrier, D.E.; DeLoach, J.R. 1989. Poult. Sci. 68, 1351-1356.
- Pascual, M.; Hugas, M.; Badiola, J.I.; Monfort, J.M.; Garriga, M. 1999. Appl. Environ. Microbiol. 65, 4981-4986.
- Pasmans, F.; Martel, A.; De Vriese, L. A.; Cauwerts, K.; De Gussen, K.; Decostere, A.; Haesenbrouck, F. 2004. Proc. XXII World's Poultry Congress, Istanbul, Turquía, CD-Rom.
- Patterson, J. A.; Burkholder, K.M. 2003. Poultry Sci. 82, 627-631.
- Phillips, I.; Casewell, M.; Cox, T.; De Groot, B.; Friis, C.; Jones, R.; Nightingale, C.; Preston, R.; Waddell, J. 2004. J. Antimic. Chem., 53, 28-52.
- Plail, R. (2006). Poult. Int. June 2006, 34-36.
- Recoquilly, F (2006). Poultry International. February. P 28-31.
- Ricke, S. C.; Kunderling, M. M.; Miller, D. R.; Keeton, T. 2005. Poultry Sci. 84, 667-675.
- Rosen, G. 2006. Poult. Sci. 85, 957-959.
- Ross, Z.M.; O'Gara, E.A.; Hill, D.J.; Sleightholme, H.V.; Maslin, D.J. 2001. Appl. Environ. Microbiol. 67, 475-480.
- Ross Tech. Anónimo. 1998. 98/36.
- Rutkowski, A. ; Kacmarek, S. ; Józefiak, D. 2005. Proceedings 15th European Symposium on Poultry Nutrition. Balatonfüred, Hungría, 25-29 de Septiembre de 2005. pp. 253-255.
- Santin, E.; Maiorka, A.; Macari, M.; Grecco, M.; Sánchez, J. C. ; Okada, T. M. ; Myasaka, A. M. 2001. J. Appl. Poultry Res. 10, 236-244.
- Santomá, G. 1999. Memoria XXXVI Symp. Avicultura, Sec. Esp. WPSA, Valladolid 20-22/10/99, pp. 95-132.
- Schoeni, J.L. ; Wong, A.C. 1994. Appl. Environm. microb., 60, 1191-1197.
- Simon, O.; Jadamus, A. 2002. Proceedings 11th European Poultry Conference, Bremen, Alemania, Julio 2002. CD-Rom.
- Sims, M. D.; Dawson, K. A.; Newman, K. E.; Spring, P.; Hooge, D. M. 2004. Poultry Sci. 83, 1148-1154.
- Sissons, J.W. 1989. J. Food Agr. Sci. 49, 1-13.
- Spring, P. 2000. Feed Mix Special 2000, 32 – 34.
- Spring, P., Wenk, C., Dawson, K.A.; Newman, K.E. 2000. Poult. Sci. 79, 209-211.
- Stahly, T. 1996. XII Curso de Especialización. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Fundación para el desarrollo de la Nutrición Animal. 7 y 8 de Noviembre. Madrid. pp. 95-105.
- Stanley, V.G.; Gray, C.; Daley, M.; Krueger, W.F.; Sefton, A.E. (2004). Poultry Science 83, 39-44.

- Stavric, S. ; D'Aoust, J.Y. 1993. *J. Food Prot.* 56, 173-180.
- Stern, N.J. 1995. En: *Proc. Maryland Nutr. Conf. Feed Manuf.* pp. 30-36. University of Maryland.
- Tannock, G.W.; Dashkevich, M.P.; Feighner, S.D. 1989. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 1848-1851.
- Téllez, G.; Higgins, S.E.; Donoghue, A.M. ; Hargis, B.M. 2006. *J. Appl. Poultry Res.* 15, 136-144.
- Teo, A. Y. L.; Tan, H. M. 2006. *J. Appl. Poultry Res.* 15, 229-235.
- Thompson, J. L.; Hinton, M. 1997. *Br. Poult. Sci.* 38, 59-65.
- Tierney, J.; Gowing, H.; Van Sindersen, D.; Flynn, S.; Stanley, L.; McHardy, N.; Hallahan, S.; Mulcahy, G. 2004. *Vet. Parasitol.* 122, 171-182.
- Torres-Rodríguez, A.; Sartor, C.; Higgins, S. E.; Wolfenden, A. D.; Biele, L. R.; Pixley, C. M.; Sutton, L.; Tellez, G.; Hargis, B. M. 2005. *J. Appl. Poultry Res.* 14, 665-669.
- Tucker, L.A. ; Esteve-García, E.; Connolly, A. 2003. *Proceedings 14th European Symposium on Poultry Nutrition.* Lillehammer, Noruega, 10-14 de Agosto de 2003. pp. 193-194.
- Turnidge, J. 2004. *J. Antimicrob. Chem.* 53, 26-27.
- Van der Eijk, C. 2002. *Feed Mix*, 10 (6), 34-36.
- Van der Wielen, P. W.; Biesterveld, S.; Notermans, S.; Hofstra, H.; Urlings, B. A.; Van Knapen, F. 2000. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2536-2540.
- Van Hees, H.; van Gils, B. 2002. *Feed Mix*, 10 (6), 27-29.
- Van Immerseel, F.; Cauwerts, K.; Devriese, L. A.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R. 2002. *J. WPSA* 58, 501-513.
- Van Immerseel, F.; De Buck, J.; Pasmans, F.; Huyghebaert, G.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R. 2003. *Avian Pathol.* 33(6), 537-549.
- Van Immersel, F.; Fievez, V.; De Buck, J.; Pasmans, F.; Martel, A.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R. 2004a. *Poultry Sci.* 83, 69-74.
- Van Immerseel, F.; de Buck, J.; Boyen, F.; Bohez, L.; Pasmans, F.; Volf, J.; Sevcik, M.; Rychlik, I.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R. 2004b. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 3582-3587.
- Vasudevan, P.; Marek, P.; Nair, M. K. M.; Annamalai, T.; Darre, M. ; Khan, M.; Venkitanarayanan, K. 2005. *J. Appl. Poultry Res.* 14, 122-125.
- Viaene, J.; De Craene, A. 1993. *World Poultry* 9(11), 45-46.
- Wakeman, G. (2005). *World Poultry* 21 (7), 28-29.
- Waldroup, A. L.; Skinner, J. T.; Hierholzer, R. E.; Waldroup, P. W. 1993. *Poultry Sci.* 72, 643-650.
- Walton, J. R. 1988. *Proc. Maryland Nutr. Conf.*, pp. 92-97.
- Walton, J. R. 1996. En: *Recent advances in animal nutrition*, Gainswothy, P.C. & Wiseman, J. (eds.), Nottingham University Press, UK, pp. 19-46.
- Williams, R. B. 2005. *Avian Pathol.* 34(3), 159-180.
- Williams D.L.; Mueller A.; Browder W. 1996. *Clin Immunother.* 5, 392-399.
- Williams, P.; Losa, R. 2001. *World Poultry*, 17(4), 14 -15.
- Williams, P. G.; Mitsch, P.; Köhler, B.; Gabler, C.; Losa, R. 2003. *Poultry Sci.* 82 (Suppl. 1), 117-118.
- Witte, W. 1998. *APUA Newsletter*, 16(3), 1, 4-6.
- Wu, Y. B.; Ravindran, V.; Thomas, D. G.; Birtles, M. J.; Hendriks, W.H. 2004. *Brit. Poultry Sci.* 45(3), 385-394.
- Xu, Z. R.; Hu, C. H.; Xia, M. S. ; Zhan, X. A.; Wang, M. Q. 2003. *Poultry Sci.* 82, 1030-1036.
- Yeo, J. and Kim, K.I. 1997. *Poultry Sci.* 76, 381-385.
- Youn, H. J.; Noh, J. W. 2001. *Veterinary Parasitology* 96, 257-263.
- Zaghini, A.; Martelli, G.; Roncada, P. ; Simioli, M. ; Rizzi, L. 2005. *Poultry Sci.* 84, 825-832.

- Zdunczyk, Z.; Juskiewicz, J.; Jaankowski, J.; Biedrzycka, E.; Koncicki, A. 2005. Poultry Sci. 84, 903-909.
- Ziegler, T.R.; Evasn, M.E.; Fernández-Estivariz, C.; Jones, D.P. 2003. Annu. Rev. Nutr. 23, 229-261.
- Zrustova, J.; Ritter, M.; Svoboda, K.P.; Brooker, J.D. 2005. Proceedings 15th European Symposium on Poultry Nutrition. Balatonfüred, Hungría, 25-29 de Septiembre de 2005. pp. 221-233.